



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**GENETİK NEDENLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN VE AĞIR HASTALIK
BULGULARI GÖSTEREN YENİDOĞANLARDA HIZLI TÜM EKZOM
DİZİLEMENİN TANIDAKİ YERİ**

Doktora Tezi

Adı SOYADI: DURDUGÜL AYYILDIZ EMECEN

Anabilim Dalı Adı: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

İzmir
2025

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**GENETİK NEDENLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN VE AĞIR HASTALIK
BULGULARI GÖSTEREN YENİDOĞANLARDA HIZLI TÜM EKZOM
DİZİLEMENİN TANIDAKİ YERİ**

Adı SOYADI: DURDUGÜL AYYILDIZ EMECEN

Danışman:
Prof.Dr.Tahir ATİK

Anabilim Dalı Adı :Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Programın Adı: Genetik Doktora Programı

İzmir
2025

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr. Tahir ATİK

(Danışman)

Üye : Prof.Dr. Ferda .ÖZKINAY

Üye : Prof.Dr. Özge ALTUN KÖROğLU

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih:

Önsöz

Bu tez, genetik hastalıkların tanısallık sürecine olan ilgimin derinleştiği ve bu alandaki bilimsel merakımı disiplinli bir araştırmaya dönüştürdüğüm bir yolculuğun ürünüdür. Genetik biliminin hızla gelişen yapısı içinde, özellikle tanı koyulamayan olgularda moleküler düzeyde yanıtlar aramak, hem zorlayıcı hem de öğretici bir süreçti.

Çalışmam boyunca yalnızca teknik bilgi değil; sabır, dikkat ve sürekli öğrenme ihtiyacı gibi bilimsel araştırmanın temel nitelikleriyle de karşılaştım. Bu süreç bana genetik tanı yöntemlerinin, özellikle de tüm ekzom dizileme teknolojisinin, sadece laboratuvarla sınırlı kalmadığını; klinik uygulamalarda karar süreçlerini doğrudan etkileyen güçlü bir araç olduğunu gösterdi.

Bu tez, genetik biliminin hem araştırma hem de uygulama boyutlarını anlamaya çalıştığım; teorik bilgileri pratikle birleştirme fırsatı bulduğum bir sürecin yansımasıdır. Bilimsel üretimin zaman ve emek gerektirdiğini, ancak sabırla sürdürüldüğünde anlamlı sonuçlara ulaştırdığını bu süreçte deneyimledim.

İzmir, 30.08.2025

Durdugül AYYILDIZ EMECEN

Özet

Genetik Nedenli Olduğu Düşünülen Ve Ağır Hastalık Bulguları Gösteren Yenidoğanlarda Hızlı Tüm Ekzom Dizilemenin Tanıdaki Yeri

Giriş: Tüm ekzom dizileme (Whole Exome Sequencing-WES), insan genomundaki yaklaşık 20.000 genin eş zamanlı dizilenmesini sağlayarak monogenik hastalıkların tanısında önemli bir araç haline gelmiştir. Son yıllarda klinik uygulamalarda kullanım sıklığı artmakla birlikte, özellikle çoklu sistem tutulumu ve konjenital anomalileri olan olgularda tanıya ulaşmadaki başarısı %30–50 arasında bildirilmektedir. Ancak yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde WES'in rutin kullanımını henüz yaygınlaşmamıştır. Kritik durumdaki yenidoğanlarda hızlı ve doğru tanıya ulaşmak, hem tedavi sürecini yönlendirmek hem de prognoz ve aile danışmanlığı açısından hayati önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yenidoğan yoğun bakım servisinde yatan ve monogenik hastalık şüphesi taşıyan hastalarda hızlı WES'in tanı ve tedavi sürecine katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, yenidoğan yoğun bakım servisinde yatmakta olan ve monogenik hastalık şüphesi taşıyan, klinik bulgular ve aile öyküsü ile desteklenen 8 hasta incelenmiştir. Hastaların tümü çocuk genetik hastalıkları uzmanı tarafından muayene edilerek fizik muayene bulguları kaydedilmiş; laboratuvar ve klinik verileri hasta dosyalarından elde edilerek olgu rapor formlarına aktarılmıştır. Hastalara hızlı WES uygulanmış ve analizler, klinik bulgular ile birlikte yeni nesil dizileme veritabanları kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 8 hastanın 6'sı kız, 2'si erkekti; yaşları doğumdan itibaren 1 ile 60 gün arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 25,5 gündü. Üç hastada ebeveynler arasında akrabalık öyküsü mevcuttu. WES sonucunda beş hastada (Olgu 1, 4, 5, 7 ve 8) klinik bulgularla ilişkili patojenik veya olası patojenik varyantlar saptandı. Üç hasta (Olgu 5, 6 ve 7) WES sonucu çıkmadan önce, bir hasta (Olgu 1) ise WES sonucu çıktıktan sonra yaşamını yitirmiştir. Olguların WES sonuçlanma süresi ortalama 6 hafta olup, bu süre 4 ila 12 hafta arasında değişmekteydi. Hastaların %50'sinde genotip-fenotip ilişkisini destekleyen varyantlar saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma, WES'in, özellikle etiyolojisi belirlenememiş ve ileri düzey yenidoğan yoğun bakım gereksinimi olan hastalarda tanısal süreci hızlandırarak klinik

yönetimi olumlu etkilediğini göstermektedir. Hızlı genetik tanı sayesinde uygun tedaviye erken başlanmakta, gereksiz ilaç kullanımını azaltılmakta ve genetik danışmanlık süreçleri daha etkin yürütülebilmektedir. Elde edilen genetik veriler, ayrıca taşıyıcılık taramaları gibi ikincil sağlık uygulamalarına da katkı sağlamaktadır. Bu bağlamda, hızlı WES'in, nadir genetik hastalıkların erken tanı ve yönetiminde artan bir öneme sahip olduğu ve multidisipliner klinik-genetik yaklaşımın vazgeçilmez bir parçası haline geldiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler; Whole Exome Sequencing-WES, Genetik hastalıklar, Next Generation Sequencing-NGS-Yeni nesil dizileme



Abstract

Role Of Rapid Whole Exome Sequencing in Critically Ill Newborns with a Preliminary Diagnosis Of Genetic Syndrome

Introduction: Whole Exome Sequencing (WES), which enables the simultaneous sequencing of approximately 20,000 genes in the human genome, has become a significant tool in the diagnosis of monogenic disorders. Although its clinical use has increased in recent years, especially in cases with multisystem involvement and congenital anomalies, diagnostic yield remains between 30% and 50%. However, WES is not yet routinely implemented in neonatal intensive care units (NICUs). In critically ill neonates, rapid and accurate diagnosis is vital for guiding treatment decisions, prognosis, and genetic counseling. This study aimed to evaluate the contribution of rapid WES to the diagnostic and therapeutic process in NICU patients with suspected monogenic diseases.

Methods: Eight patients admitted to the NICU with clinical findings and family histories suggestive of monogenic disorders were included in this study. All patients underwent physical examinations by a pediatric genetics specialist. Clinical and laboratory data were collected from patient files and recorded in case report forms. Rapid WES was performed for each patient, and sequencing data were analyzed using next-generation sequencing databases in conjunction with clinical findings to establish a molecular diagnosis.

Results: Of the eight patients included, six were female and two were male. Ages ranged from 1 to 60 days, with a mean of 25.5 days. A history of consanguinity was present in three cases. Pathogenic or likely pathogenic variants associated with the clinical presentation were identified in five patients (Cases 1, 4, 5, 7, and 8). Three patients (Cases 5, 6, and 7) died before WES results were available, and one patient (Case 1) died shortly after WES findings were reported. A diagnostic yield of 50% (4/8) was observed. The average turnaround time for WES results was 6 weeks, ranging from 4 to 12 weeks.

Conclusion: This study demonstrates that WES accelerates the diagnostic process and positively impacts clinical management in critically ill neonates, particularly when the etiology is unclear. Early molecular diagnosis facilitates the initiation of targeted therapies, prevents unnecessary treatments, and enhances the effectiveness of genetic

counseling. Furthermore, WES data can guide secondary healthcare practices, including carrier screening. Rapid WES is increasingly playing a vital role in the early diagnosis and management of rare genetic disorders and contributes significantly to healthcare delivery as part of a multidisciplinary clinical-genetic approach.

Keywords; Whole Exome Sequencing-WES, genetic disorders, Next Generation Sequencing-NGS



İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	VIII
Şekiller Dizini	IX
Grafikler Dizini	X
Kısaltma Listesi	XI
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu	1
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	2
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	2
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	2
1.6. Araştırmanın Amacı	3
Genel Bilgiler	4
Gereç ve Yöntem	14
Bulgular.....	23
Tartışma	32
Sonuç ve Öneriler	42
Kaynaklar	44
Ekler	50
Teşekkür.....	51
Özgeçmiş	52

Tablolar Dizini

Tablo-1: Genetikte sık kullanılan terimler

Tablo-2: Genetik tanı yöntemleri

Tablo-3: ACMG varyant sınıflaması

Tablo-4: Olguların klinik bulguları

Tablo-5: Olguların mutasyon spektrumu



Şekiller Dizini

Şekil-1: 46,XY karyotip analizi



Grafikler Dizini

Şekil tablosu ögesi bulunamadı.



Kısaltma Listesi

NGS	:	Next Generation Sequencing – Yeni nesil dizileme
WES	:	Whole Exome Sequencing- Tüm ekzom dizi analizi
WGS	:	Whole Genome Sequencing- Tüm genom dizileme
FISH	:	Fluorescence In Situ Hybridization
CGH	:	comparative genomic hybridization
SNP	:	single nucleotide polymorphism-tek nükleotid polimorfizmi
CNV	:	Copy number variation- kopya sayısı değişikliği
ACMG	:	American College of Medical Genetics and Genomics
MLPA	:	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
PCR	:	Polymerase chain reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NGS	:	Yeni Nesil Dizi Analizi-Next Generation Sequencing
KML	:	Kronik Myeloid Lösemi
AML	:	Akut Miyeloid Lösem
HT	:	Heterozigot
HO	:	Homozigot
LP	:	Likely Pathogenic (Olası patojenik)
LB	:	: Likely Benign (Olası Benign)
P	:	Pathogenic (Patojenik)
B	:	Benign
JMML	:	Juvenil Miyelomonositik Lösemi

MRG	:	manyetik rezonans görüntüleme
EKO	:	ekokardiyografi
PFO	:	Patent foramen ovale
DKM	:	Dilate kardiyomyopati
HKM	:	Hipertrofik kardiyomyopati
OD	:	Otozomal dominant
OR	:	Otozomal Resesif
VSD	:	Ventriküler septal defekt
RDS	:	Respiratuvar distres sendromu
LAD	:	Lökosit adezyon defekti
LVNC	:	Sol ventrikül non-kompaktasyonu

Giriş

Son yıllarda genetik temelli hastalıkların tanı süreçlerinde kaydedilen ilerlemeler, özellikle tüm ekzom dizileme (Whole Exome Sequencing – WES) gibi yeni nesil dizileme yöntemlerinin kullanım alanlarını genişletmiştir. WES, insan genomundaki yaklaşık 20.000 geni eş zamanlı analiz etme kapasitesi sayesinde, özellikle monogenik hastalıkların tanısında güçlü bir araç haline gelmiştir. Klinik pratikte sıklıkla kullanılmaya başlanmış olan bu yöntem, %30–50 arasında tanı başarısı ile özellikle konjenital anomaliler ve multisistem tutulum gösteren vakalarda etkinliğini kanıtlamıştır. Ancak, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde, WES'in rutin ve hızlı versiyonlarının kullanımı henüz sınırlıdır. Oysa, durumu kritik olan ve etiyolojisi açıklanamamış yenidoğanlarda hızlı ve doğru tanıya ulaşmak, tedavi yönetimi ve prognoz açısından büyük önem taşımaktadır.

Yenidoğanlarda genetik bir etiyolojinin erken dönemde tanınması; gereksiz tedavi uygulamalarının önlenmesi, hedefe yönelik müdahalelerin erken başlatılması, ileride gelişebilecek komplikasyonların öngörülmesi ve ailelere genetik danışmanlık verilmesi açısından oldukça değerlidir. Literatürde, hızlı WES uygulanan kritik hastalarda tanısal verimin yüksek olduğu ve tedavi planlamasını önemli ölçüde değiştirdiği gösterilmiştir. Ancak, bu tür uygulamaların Türkiye'deki yenidoğan yoğun bakım hastaları üzerindeki etkisi konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

1.1. Araştırmanın Problemi

Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan, klinik ve aile öyküsüyle genetik hastalık şüphesi taşıyan bebeklerde, tanısal süreç genellikle zaman alıcı, maliyetli ve belirsizliklerle doludur. Mevcut tanı yaklaşımları çoğu zaman yetersiz kalmakta, bu da erken müdahale şansını azaltmaktadır. Hızlı WES gibi moleküler düzeyde bilgi sunan testlerin bu hasta grubunda tanısal sürece katkısı yeterince için yeterince ulusal yayın bulunmamaktadır. Bu bağlamda, bu çalışmada kritik durumdaki yenidoğanlarda hızlı WES'in tanıya ulaşmadaki rolünün değerlendirilmesi, literatürdeki boşluğu doldurmayı hedeflemektedir.

1.2. Araştırmanın Sorusu

PICO modeline göre oluşturulan araştırma sorusu aşağıdaki gibidir.

P (Population / Popülasyon): Yenidoğan yoğun bakımda yatan, genetik hastalık şüphesi olan hastalar.

I (Intervention / Girişim): Hızlı tüm ekzom dizileme.

C (Comparison / Karşılaştırma): Geleneksel tanı yöntemleri veya tanı sürecinin uzaması.

O (Outcome / Sonuç): Daha kısa sürede ve daha yüksek tanı oranına ulaşılması.

Kritik durumdaki yenidoğanlarda, hızlı tüm ekzom dizileme yöntemi, geleneksel tanı yaklaşımlarına göre tanısal başarıyı ve süreci iyileştirmekte midir?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

H1: Kritik durumdaki yenidoğanlarda hızlı WES, tanısal başarı oranını artırır.

H2: Hızlı WES, tanı süresini kısaltarak klinik yönetimde değişiklik yapılmasını sağlar.

H3: Hızlı WES ile tanı alan hastalarda, tedavi planlaması ve izlem stratejileri olumlu yönde etkilenir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Hızlı WES yöntemi, monogenik hastalık şüphesi taşıyan kritik hastalarda uygulanabilir durumdadır.

Klinik veriler ve aile öyküsü, genetik analiz sonuçlarının yorumlanmasında yeterli bilgi sağlamaktadır.

Genetik varyantların klinik önemi, mevcut veritabanları kullanılarak güvenilir biçimde değerlendirilebilmektedir.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

- 1.Çalışmaya dâhil edilen hasta sayısı sınırlı olup (n=8), sonuçların genellenebilirliği kısıtlıdır.
- 2.Hızlı WES sonuçlarının elde edilme süresi, laboratuvar ve lojistik koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.
3. Hastaların genel durumlarının ciddi olması ve yaşlarının yenidoğan döneminde olması, fenotipik özelliklerin tam olarak ortaya çıkmasını ve fenotip-genotip ilişkisinin değerlendirilmesini zorlaştırmıştır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan ve monogenik hastalık şüphesi taşıyan bebeklerde, hızlı tüm ekzom dizileme yönteminin tanı sürecine olan katkısını değerlendirmektir.

Genel Bilgiler

Nadir Hastalıklar ve Genetik Kökenleri

Nadir hastalıklar, toplumda düşük prevalansa sahip ancak toplamda geniş bir hasta kitlesini etkileyen hastalık gruplarını ifade eder. Dünya genelinde yaklaşık 7.000 nadir hastalık tanımlanmış olup, bu hastalıklar yaklaşık 300 ila 400 milyon kişiyi etkileyen önemli sağlık problemlerindedir (Gürkan, H., & Satkın, N. B., 2025). Nadir hastalıkların %80'i genetik kökenlidir ve monojenik kalıtım modellerine bağlı olarak ortaya çıkar. Bu durum, nadir hastalıkların tanı ve tedavisinde genetik analizlerin önemini artırmaktadır (Genome.gov, 2025).

Nadir hastalıkların tanımı ülkeden ülkeye farklılık gösterir, ABD'de nadir hastalıklar 200.000'den az kişiyi etkileyen hastalıklar olarak tanımlanırken, Avrupa Birliği'nde bu sınır 2.000 kişi olarak kabul edilmektedir (Institute of Medicine [US] Committee, 2010). Bu sınırlamalar, hastalıkların prevalansını ve sağlık politikalarının belirlenmesini etkileyen önemli faktörlerdir Hastaların büyük çoğunluğu çocukluk döneminde tanı almaktadır; ancak tanı süreci çoğu zaman uzundur ve zordur. Geleneksel tanı yöntemleri ile tanı koymak yıllar sürebilmekte ve bu durum hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir (Institute of Medicine [US] Committee, 2010).

Genetik testlerin, özellikle yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing - NGS) teknolojilerinin geliştirilmesiyle, nadir hastalıkların tanısı önemli ölçüde hızlanmıştır. Tüm ekzom dizi analizi (Whole Exome Sequencing- WES) ve Tüm genom dizileme (Whole Genome Sequencing- WGS) gibi teknikler, hastaların doğru tanıya ulaşmasını haftalar veya aylar içinde mümkün kılmakta, böylece invaziv ve maliyetli testlerin gerekliliği azaltılmaktadır (Genome.gov, 2025). Ayrıca, bu gelişmeler tedavi planlamasında kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarının önünü açmış, hastaların yaşam kalitelerini iyileştirmiştir.

Nadir hastalıkların tanı sürecindeki gecikmeler, hastalar için ciddi morbidite ve mortalite riskleri doğurmakta, bu da sağlık sistemlerinde ek yükler yaratmaktadır. Erken tanı ve uygun genetik danışmanlık hizmetleri, hem hasta hem de aile için hayati

önem taşımaktadır (Gürkan, H., & Satkın, N. B., 2025). Bu nedenle, dünya çapında nadir hastalıklar konusunda farkındalık artırma çabaları sürdürülmekte ve genetik testlerin yaygınlaştırılması hedeflenmektedir (Institute of Medicine [US] Committee, 2010).

Nadir hastalıkların genetik yapısı üzerine yapılan araştırmalar, hastalık mekanizmalarının anlaşılmasını ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini sağlamaktadır. Sistem biyolojisi yaklaşımları ve geniş popülasyon veritabanları sayesinde, hastalık fenotipleri ile genotipleri arasındaki ilişkiler daha detaylı incelenmekte ve hastalıkların moleküler temelleri ortaya konmaktadır (Hong et al., 2024). Bu durum, özellikle nadir hastalıklar gibi heterojen hastalık gruplarında tanı ve tedavinin kişiye özgü hale getirilmesine olanak sağlamaktadır.

Nadir hastalıklarla yaşayan hastaların ve ailelerinin desteklenmesi de önemlidir. Hasta dernekleri ve uluslararası iş birlikleri, bilgi paylaşımı, psikososyal destek ve yeni tedavi yöntemlerine erişim konusunda kritik roller üstlenmektedir (Genomics in Rare Diseases, 2023; Rare Genomics Institute, 2025). Ayrıca, genetik testlerin yaygınlaşması ve hasta verilerinin toplanması ile nadir hastalıklara yönelik bilimsel çalışmalar hız kazanmıştır (Hong et al., 2024).

Sonuç olarak, nadir hastalıkların çoğunlukla genetik temelli olması, tanı ve tedavi süreçlerinde genetik analizlerin vazgeçilmez olduğunu göstermektedir. Yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanımı, tanı sürecini kısaltmakta ve hastaların yaşam kalitesini artırmaktadır. Sağlık politikalarında nadir hastalıklar için özel stratejilerin geliştirilmesi, erken tanı ve hasta destek sistemlerinin güçlendirilmesi, bu hasta grubunun gereksinimlerine daha etkili çözümler sunacaktır.

Genetik terminoloji ve sık kullanılan terimler

Genetik tanı yöntemlerinden bahsetmeden önce aşağıdaki tabloda (Tablo-1)

Sık kullanılan genetik terimlerinin anlamları yer almaktadır. Bu terminoloji tezin tamamını anlamada okuyucuya yardımcı olmak amacıyla yapılmıştır.

Tablo-1: Genetikte sık kullanılan terimler

Terim	Tanım
Gen	DNA'nın belirli bir bölgesi olup, belirli bir protein ya da işlevsel RNA molekülünü kodlayan birimdir.
Genom	Bir organizmadaki tüm genetik materyalin (DNA) tamamıdır.
Mutasyon	DNA diziliminde meydana gelen kalıcı değişikliktir; hastalıklara ya da fenotipik farklılıklara yol açabilir.
Varyant	Genetik dizilimdeki normal farklılıkları ifade eder; tüm varyantlar hastalıkla ilişkili değildir.
Alel	Bir genin aynı lokustaki alternatif biçimlerinden her biri. İnsanlarda her gen çiftinde iki alel bulunur; biri anneden, biri babadan gelir
Monoalelik	Bir gen çiftinden sadece bir alelin (genin iki kopyasından birinin) etkili olduğu durumdur. Genellikle dominant özellikler veya hastalıklar bu şekilde ortaya çıkar.
Bialelik	Bir gen çiftinde her iki alelin (genin iki kopyasının) etkili olduğu durumdur. Genellikle resesif özellikler veya hastalıklar bu yolla ortaya çıkar.
Alelik heterojenite	Aynı fenotipe neden olan farklı mutasyonların aynı gen üzerinde meydana gelmesidir.
Genetik heterojenite	Aynı klinik fenotip veya hastalık tablosunun, farklı genlerde veya farklı genetik varyantlarda oluşması durumu. Bu, aynı hastalığın farklı genetik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabileceğini ifade eder.
Homozigot	Bir bireyin bir genden iki aynı alleli taşıması durumudur.
Heterozigot	Bir bireyin bir genden iki farklı alleli taşıması durumudur.
Polimorfizm	Genetik dizilimdeki yaygın varyasyonlar olup, genellikle hastalıkla ilişkili değildir.
Ekzom	Protein kodlayan genlerin tamamıdır; genomun yalnızca yaklaşık %1-2'sini oluşturur.
WES	Ekzom bölgelerinin tamamının dizilendiği, genetik hastalıkların tanısında kullanılan bir analiz yöntemidir.
WGS	Tüm genomun dizilenmesini sağlar

Penetrans	Genetik bir varyant taşıyan bireylerin, hastalık fenotipini gösterme olasılığıdır.
Ekspresyon	Genetik bilginin fenotipte görünme durumudur

Tablo 1. Genetik terimler ve tanımları (Genome.gov, 2025; Genetics Home Reference, 2022; Hong et al., 2024; Institute of Medicine, 2010; MedlinePlus Genetics, 2023; Schuler, Smith, & Johnson, 2022).

Genetik tanı yöntemleri

Genetik yöntemleri üç başlık altında toplayabiliriz.

1. Sitogenetik Yöntemler

Sitogenetik yöntemlerin temel amacı, kromozom seviyesindeki sayı ve yapı bozukluklarını belirlemektir. En yaygın yöntem karyotipleme (G-banding) olup; özellikle büyük kromozomal anöploidiler, translokasyonlar ve inversiyonların tanısında altın standarttır (Nussbaum, McInnes ve Willard, 2015). Klinik pratikte, karyotipleme ile Down, Edwards, Patau sendromları gibi sayısal anomaliler veya Robertsonian translokasyonları teşhis edilmektedir. Ayrıca prenatal tanı ve infertilite taramalarında da rutin olarak kullanılmaktadır (Berisha ve ark., 2020; Salaverria ve ark., 2024).

Karyotip analizi, bireyin kromozomlarının sayı ve yapısal bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla kullanılan klasik sitogenetik bir yöntemdir. Bu analiz, özellikle büyük kromozomal anomalilerin tanısında altın standart kabul edilmekte olup, kromozomlar Giemsa ile boyanarak G-bantlama yöntemiyle mikroskop altında değerlendirilir (Nussbaum, McInnes & Willard, 2015). Analiz, periferik kan, amniyotik sıvı, koryon villus biyopsisi veya kemik iliği gibi farklı kaynaklardan elde edilen hücrelerin kültüre edilerek metafaz evresinde sabitlenmesiyle gerçekleştirilir (Pelzman, Brody & Pelzman, 2021). Karyotip analizinin en yaygın klinik kullanım alanlarından biri prenatal tanıdır. Bu analiz, fetüste yapısal anomali şüphesi bulunan olgularda, ileri anne yaşı (≥ 35), pozitif tarama testleri veya ailede dengeli translokasyon öyküsü gibi risk faktörleri varlığında sıklıkla önerilmektedir (American

College of Obstetricians and Gynecologists, 2020). Ayrıca tekrarlayan düşük öyküsü bulunan çiftlerde ya da açıklanamayan infertilite durumlarında, dengeli translokasyonlar gibi kromozomal anomalilerin saptanabilmesi amacıyla da bu analiz yaygın olarak uygulanmaktadır (Pelzman et al., 2021).

Onkogenetik alanda, özellikle hematolojik malignitelerde (örneğin: akut lösemiler, lenfomalar) tanı, prognoz ve tedavi yanıtının belirlenmesinde karyotip analizinin önemi büyüktür. Örneğin, Kronik Myeloid Lösemi (KML) tanısında Philadelphia kromozomu olarak bilinen t(9;22)(q34;q11) translokasyonu bu yöntemle saptanabilir (StatPearls, 2016). Benzer şekilde, Akut Miyeloid Lösemi’de (AML) inv(16) ya da t(8;21) gibi sitogenetik değişiklikler prognostik sınıflamayı doğrudan etkiler (Alanen & Sujansky, 2016).

Yöntemin en önemli avantajlarından biri, büyük yapısal değişiklikleri doğrudan görüntüleyebilmesidir; ancak 5–10 Mb'den küçük delesyon ya da duplikasyon gibi mikroskobik değişiklikleri tespit etme kapasitesi sınırlıdır (Nussbaum et al., 2015; StatPearls, 2016). Şekil-1’de normal karyotip analizi gösterilmiştir

Şekil-1: 46,XY karyotip analizi (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sitogenetik Laboratuvarı Arşivi, 2025)



2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler

Bu kategoride, Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), ve Konstitüsyonel sitogenomik mikroarray analizleri gibi yöntemler yer alır. Bu yöntemler mikro

delesyon/duplikasyon gibi küçük yapısal değişiklikleri belirlemede oldukça etkilidir (South et al., 2013; Liehr, 2017).

Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), belirli DNA dizilerinin floresan işaretli prob kullanılarak hücre çekirdeği veya kromozomlarda lokalize edilmesini sağlayan moleküler bir tekniktir (Liehr, 2017). Klasik karyotip analizinin tespit edemediği mikro delesyon, duplikasyon ve yapısal kromozomal anomalilerin hızlı ve hassas tanısında kullanılır. FISH, hedeflenen genetik bölgelerin spesifik olarak incelenmesine olanak tanır ve prenatal tanı, kanser genetiği ile genetik hastalıkların teşhisinde yaygın olarak tercih edilir. Yöntem, yüksek duyarlılık ve hız avantajına sahip olmakla birlikte, yalnızca önceden belirlenen bölgeleri inceleyebilir.

Konstitüsyonel sitogenomik mikroarray analizleri, özellikle array CGH (comparative genomic hybridization) ve SNP (single nucleotide polymorphism) array yöntemleri, genomdaki kopya sayısı varyasyonları (copy number variation-CNV) ile küçük delesyon ve duplikasyonları yüksek çözünürlükte tespit etmek amacıyla kullanılır (South et al., 2013). Bu teknikler, klasik karyotip analizine göre çok daha hassas ve ayrıntılı veri sağlamakta olup, özellikle gelişimsel gerilik, konjenital anomaliler, nörolojik bozukluklar ve çeşitli genetik hastalıkların tanısında tercih edilmektedir. Mikroarray analizleri, hastaların tanı sürecini hızlandırmakta ve genetik danışmanlık için kritik bilgi sağlamaktadır. Bununla birlikte, yapılandırılmış dengeli translokasyonları ve bazı düşük seviyeli mozaikizmaları tespit etmekte sınırlılıkları vardır, bu nedenle ek genetik testlerle desteklenmesi gerekmektedir.

3. Moleküler Genetik Yöntemler

Moleküler genetik yöntemler, DNA dizisini doğrudan analiz eden teknikleri içerir. En duyarlı ve spesifik yöntemler olarak, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Sanger dizileme, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification(MLPA), Yeni nesil dizi analizi (Next-Generation Sequencing -NGS) sayılabilir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase chain reaction-PCR), belirli DNA dizilerinin milyarlarca kopyasını kısa sürede oluşturmayı sağlayan temel bir moleküler biyoloji tekniğidir (Ghannam & Varacallo, 2023). Bu yöntem öncelikle denatürasyon, yani DNA çift zincirinin yaklaşık 95 °C'de tek zincire ayrılması aşamasıyla başlar. Ardından sıcaklık yaklaşık 50–65 °C'ye düşürülerek primer dizileri hedef DNA

üzerinde bağlanır (annealing). Daha sonra sıcaklık yaklaşık 75–80 °C'ye yükseltilerek DNA polimeraz enzimi devreye girer; seçilen bölgeyi çoğaltarak zincir uzatmayı gerçekleştirir (elongation). Bu üç adım, termik döngüler halinde 25–40 kez tekrarlanır ve her döngüde hedef DNA miktarı katlanarak artar. İşlem sonunda, artan sayıda amplicon elde edilir. PCR, yüksek duyarlılık ve özgüllükle hem tanısal hem de araştırma amaçlı birçok alanda—örneğin tek gen mutasyonların doğrulanması, prenatal tarama, infeksiyon ajanlarının hızlı tespiti—yaygın şekilde kullanılmaktadır. **Sanger dizileme**, DNA dizilimini belirlemek için kullanılan klasik bir zincir-sonlandırma yöntemidir. Bu teknik, özel olarak tasarlanmış PCR reaksiyonu ile birincil noktalarda ddNTP eklenerek çalışır. DNA, önce denatürasyon adımıyla tek zincire ayrılır, ardından primer dizisi eklenir ve DNA polimeraz ile uzama (extension) basamağı başlar. Reaksiyona az miktarda ddNTP karıştırılır; eklendiklerinde fosfodiester bağı oluşturulamaz ve uzama sonlanır. Bu şekilde farklı uzunlukta DNA fragmanları üretilir (zincir sonlandırma PCR).

Daha sonra bu fragmanlar kapiler elektroforez veya poliakrilamid jelde boyutlarına göre ayrılır. Kapiler sistemde, her ddNTP farklı floresan boya ile etiketlidir ve bir lazerle uyarılan floresan sinyal sayesinde hangi bazın geldiği belirlenir. Sonuç, her baza karşılık floresan pik barındıran kromatogramdır. Sonuç olarak elde edilen veriler bilgisayar yazılımları tarafından analiz edilir ve yaklaşık 700–900 baz uzunluğunda, yüksek doğrulukta (>99.9%) DNA dizisi okunabilir. Bu yüksek doğruluk, Sanger dizilemeyi tek gen mutasyonlarının doğrulanmasında ve NGS sonuçlarının validasyonunda altın standart olarak öne çıkarır (Stranneheim & Lundeberg, 2012).

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA),

Bu yöntemin başlıca avantajları arasında; yüksek özgüllük, aynı anda çok sayıda bölgeyi tarayabilme kapasitesi, düşük DNA miktarı gereksinimi ve hızlı analiz süresi yer alır. Klinik uygulamalarda MLPA, özellikle konjenital sendromlar ve prenatal tanı gibi alanlarda kullanılır. Bununla birlikte, tek baz değişikliklerini veya translokasyon gibi kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit edemez, bu nedenle gerektiğinde diğer moleküler yöntemlerle birlikte kullanılır (Eijk-Van Os & Schouten, 2011).

MLPA, iki yarım probun hedef DNA dizisine hibridizasyonu ile başlar. Ardından bu yarım probun ligaz enzimi ile birleştirilir ve tek primer çifti kullanılarak PCR ile çoğaltılır. Probların uzunluklarının farklı olması sayesinde, elde edilen ürünler kapiler elektroforez ile ayrıştırılır ve her bir hedef bölgenin kopya sayısı, normal kontrollerle

karşılaştırılarak değerlendirilir (Tortora-Gil & Taracha, 2020; Eijk-Van Os & Schouten, 2011).

MLPA, Duchenne Musküler Distrofi gibi kalıtsal hastalıkların ekzon düzeyindeki delesyon veya duplikasyonlarının belirlenmesinde birinci basamak yöntem olarak tercih edilir (Eijk-Van Os & Schouten, 2011).

Yeni nesil dizi analizi (Next-Generation Sequencing -NGS), DNA veya RNA dizilerinin hızlı ve yüksek verimle eş zamanlı olarak dizilenmesine olanak sağlayan ileri düzey bir moleküler genetik analiz yöntemidir. NGS teknolojileri, klasik yöntemlerle haftalar sürebilecek genetik analizleri günler veya saatler içinde tamamlayabilme kapasitesine sahiptir. Bu kapsamda hedefli gen panelleri, WES ve tüm genom dizileme (Whole Genome Sequencing - WGS) gibi farklı düzeyde analizler yapılabilmektedir. Hedefli paneller belirli bir hastalık grubuna yönelik genleri tararken, WES protein kodlayan tüm ekzom bölgelerini analiz eder; WGS ise kodlayan ve kodlamayan tüm genomik dizileri kapsar (Goodwin, McPherson & McCombie, 2016). Bu testler, özellikle monojenik hastalıkların tanısında ve genetik heterojenitenin aydınlatılmasında önemli rol oynar (Rehm et al., 2013). NGS teknolojisinin esnekliği, klinik pratikte hem tanısal doğruluğu artırmakta hem de bireye özgü tıbbi kararlar alınmasını kolaylaştırmaktadır (Roy et al., 2018). Süreç, DNA'nın fragmentasyonu ile başlar; ardından adaptör dizileri eklenir, hedef diziler çoğaltılır ve dizileme reaksiyonları gerçekleştirilir. Bu veriler, biyoinformatik analizlerle işlenerek varyantlar yorumlanır.

NGS, özellikle nadir hastalıklar, kanser genetiği, prenatal tanı alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. NGS'nin avantajları arasında yüksek duyarlılık, geniş kapsama alanı ve maliyet etkinliği yer alırken, veri analizi karmaşıklığı ve varyant yorumlama zorlukları ise başlıca sınırlılıklarıdır (Roy et al., 2018).

Tablo-2: Genetik tanı yöntemleri (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2015)

Kategori	Yöntemler	Açıklama / Kullanım Alanı
1. Sitogenetik Yöntemler	- Karyotipleme (G-Banding) - High-resolution karyotipleme	-Büyük kromozomal anöploidiler, translokasyonlar, inversiyonlar
2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler	- FISH - Array CGH	Mikro delesyon/duplikasyon sendromları, CNV analizi
3. Moleküler Genetik Yöntemler	- PCR - Sanger Dizileme -NGS - WES/WGS - MLPA	Nokta mutasyonları, genetik varyantlar, taşıyıcılık testleri, gen paneli, farmakogenetik analizler

Tüm ekzom dizi analizi (WES)

Tüm ekzom dizilemesi, insan genomundaki protein kodlayan bölgelerin tamamını (ekzom) dizileyerek nadir varyantları tespit edebilen bir NGS yöntemidir. Bu teknikle, öncelikle genomik DNA fragmente edilir, ardından ekzomik bölgeleri hedef alan hibridizasyonla zenginleştirme yapılır. Sonrasında NGS platformları kullanılarak okutma işlemi gerçekleştirilir ve elde edilen veriler biyoinformatik analizler ile işlenerek potansiyel patojen varyantlar tanımlanır (Goodwin, McPherson & McCombie, 2016).

WES, özellikle klasik genetik testlerle veya hedefli panel analizlerinin tanı koyamadığı monojenik hastalıklarda, gelişim geriliği, konjenital anomaliler veya nörolojik hastalıklarda tanıya önemli katkı sağlar (Stranneheim & Lundeberg, 2012).

WES sonuçlarında elde edilen varyantların yorumlanması, American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) tarafından geliştirilen standartlara göre yapılır. Bu kriterler, varyantların klinik önemine göre beş kategoriye ayrılmasını sağlar: patojenik, muhtemelen patojenik, klinik önemi belirsiz (Variant of Uncertain Significance-VUS), muhtemelen benign ve benign. Sınıflandırma; varyantın

popülasyon frekansı, in silico analizler, literatür taraması, fonksiyonel çalışmalar, segregasyon analizi ve önceki klinik raporlar gibi çok sayıda parametreye dayanır. Bu sistematik yaklaşım, genetik sonuçların güvenilirliğini ve klinik karar süreçlerindeki tutarlılığı artırır (Richards et al., 2015). Tablo-3'te ACMG varyant sınıflandırması ve klinik anlamı gösterilmiştir.

Tablo-3: ACMG varyant sınıflaması (Richards et al., 2015)

Varyant Sınıfı	Kısaltma	Tanım	Klinik Anlam
Patojenik	P	Hastalıkla ilişkilendirilen ve güçlü kanıtlarla zararlı olduğu gösterilmiş varyant.	Hastalıkla doğrudan ilişkilidir, tanı ve tedaviyi etkiler.
Muhtemelen Patojenik	LP	Hastalıkla ilişkilendirilme olasılığı yüksek olan ancak kesin kanıt içermeyen varyant.	Hastalık riski vardır, klinik olarak dikkat gerektirir.
Klinik Önemi Bilinmeyen Varyant	VUS	Hastalıkla ilişkisi net olmayan, mevcut verilerle sınıflandırılmayan varyant.	Takip gerektirir; doğrudan tanıya dayanak oluşturmaz.
Muhtemelen Benign	LB	Hastalıkla ilişkilendirilme olasılığı düşük olan varyant.	Genellikle zararsızdır, klinik önemi yoktur.
Benign	B	Hastalıkla ilişkisiz olduğu net biçimde kanıtlanmış varyant.	Klinik olarak önemsizdir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya, yenidoğan yoğun bakımda ve çocuk yoğun bakımda yatan durumu kritik olan ve Ege üniversitesi Tıp Faültesi çocuk genetik bilim dali tarafından konsültasyon ile muayene edilip monogenik hastalık düşünölen 3 ayın altında 8 hasta dahil edildi. Hasta ve ailesinden onam alındıktan sonra, bire bir görüşme ve klinik verilerin yeniden değerlendirilmesi ile, hastaya ait demografik veriler, öykü özgeçmiş/soygeçmiş fizik muayene ve laboratuvar testlere ait veriler not edildi. İlk basamakta seçilen 8 olguya tüm ekzom dizi analizi (Whole exome sequencing-WES) yapıldı. WES sonucu elde edilen ham data, uygun biyoinformatik işlem akışı ile oluşturulan dosya formatları ile (FASTA, FASTq, BAM) depolandı, her bir hasta için VCF dosyası oluşturularak veri analizi gerçekleştirildi.

Projede uygulanan yöntemlerin detayları aşağıdaki şekildedir:

Hasta Seçimi ve Klinik Değerlendirme:

Bu çalışmaya yenidoğan ve çocuk yoğun bakım ünitesinde izlenmekte olan, durumu kritik ve monogenik hastalık düşünölen 8 olgu dahil edildi.

Dahil etme kriterleri:

1. Yenidoğan veya çocuk yoğunbakım ünitesinde yatıyor olma
2. 3 ay ve altında olmak
- 3.Durumunun kritik olması (multipl organ yetmezliğı)
- 4.Monogenik hastalık düşöndürme (birden fazla konjenital anomali, aile ağacında akrabalık, etkilenmiş birey öyküsü, metabolik veya nörojenetik hastalık şüphesi vb.)

Dışlama kriterleri:

- 1.3 aydan büyük olma
- 2.Monogenik hastalık düşöndürmeyen durum (travma vb.)
- 3.Tanısının kesinleşmiş olması
- 4.İzole konjenital anomali (örn. Kompleks kardiyak anomali, nöral tüp defekti)

Hasta ve ailesinden onam alındıktan sonra, bire bir görüşme ve klinik verilerin yeniden değerlendirilmesi ile, hastaya ait demografik veriler, öykü özgeçmiş/soygeçmiş (soyağacı, ebeveynler arasında akrabalık durumu, ailede benzer durumdan etkilenmiş bireylerin varlığı), fizik muayene ve laboratuvar testlere (hemogram, biyokimya metabolik tetkikler vb.) ait veriler olgu rapor formuna not edildi

Klinik Etki Değerlendirmesi

Klinik yönetimdeki değişiklikler tıbbi kayıtlardan, aile ve takip eden klinisyen ile görüşmelerden belirlendi. Bu değişiklikler beş kategoride gruplandırıldı.

1. mevcut tedavi değişiklikleri
2. ek hastalık izlemine başlama
3. diğer sistemik değerlendirmelerine gereksinim
4. ailede ek tetkik ve araştırma gerekliliği
5. rehabilitasyon ve palyatif bakıma yönlendirilmesi.

Moleküler Genetik Çalışmalar:

DNA izolasyonu için her hastadan 2 cc EDTA' lıkan alındı. alınan kan örneklerinden "QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)" kiti ve kite ait protokol kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'ların kalite ve konsantrasyonu "NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer" kullanılarak ölçüldü. Uygun kalite ve

WES tetkik basamakları

DNA Tagmentasyonu

1. Her bir örnek için, 2.5 ng/µl konsantrasyonunda hazırlanan DNA'dan 20 µl'lik hacim 0.2 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarıldı.
2. Her tüpe 25 µl Tagment DNA (TD) Buffer ilave edildi.
3. Ardından, 5 µl Tagment DNA Enzyme (TDE1) eklenerek çözelti homojen hale gelene kadar 10 kez pipetaj yapıldı.
4. Tüpler 280 xg hızda, 20°C sıcaklıkta 1 dakika süreyle santrifüj edildi.
5. Elde edilen karışım, termal siklör cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki koşullarda inkübasyona tabi tutuldu:

Tagmentasyon Sonrası Temizleme İşlemi

6. İnkübasyon işleminin ardından, her tüpe 15 µl Stop Tagment Buffer (ST) eklenerek 10 kez pipetaj yapıldı.
7. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
8. 280 xg hızda, 20°C'de 1 dakika santrifüj uygulandı.
9. Her tüpe 52 µl AMPure XP Beads eklenip homojenizasyon için 10 kez pipetaj yapıldı.
10. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
11. Ardından, 280 xg hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
12. Tüpler manyetik standda yerleştirilerek 2 dakika bekletildi.
13. Üstte kalan süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı.
14. Manyetik standda tutularak, tüplere 200 µl %80'lik taze hazırlanmış etanol eklendi ve 30 saniye bekletildi.
15. Etanol süpernatantı uzaklaştırıldı.
16. 14 ve 15. adımlar tekrar edildi.
17. Boncuklar manyetik standda kalacak şekilde tüpler oda sıcaklığında 10 dakika kurumaya bırakıldı.
18. Kuruyan boncukların üzerine 22.5 µl Resuspension Buffer (RSB) eklenip 10 kez pipetaj yapılarak süspansiyon sağlandı.
19. Karışım manyetik standda 2 dakika bekletildi.
20. Üstte oluşan 20 µl'lik süpernatant yeni bir tüpe dikkatlice aktarıldı.

PCR Amplifikasyonu

21. 20 µl'lik DNA ürünü üzerine aşağıdaki içerikte bir karışım ilave edildi:
22. Karışım, 280 xg hızda ve 20°C sıcaklıkta 1 dakika santrifüj edildi.
23. PCR tüpleri termal siklör cihazına yerleştirildi ve şu döngü programı uygulandı:

PCR Temizleme İşlemi

24. Amplifikasyon tamamlandıktan sonra tüpler termal siklörden çıkarılıp 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.

25. Her tüpe 45 µl AMPure XP Beads eklendi ve 10 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı.
26. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
27. Tüpler manyetik standda 2 dakika bekletildi.
28. Süpernatant uzaklaştırıldı.
29. Boncuklar manyetik standda iken, 200 µl taze hazırlanmış %80 etanol eklendi.
30. Etanol süpernatant uzaklaştırıldı.
31. 29.ve 30. basamaklar bir kez daha tekrarlandı.
32. Tüpler standda tutularak oda sıcaklığında 15 dakika kurumaya bırakıldı.
33. Kuruyan boncukların üzerine 40 µl Resuspension Buffer (RSB) eklendi ve 10 kez pipetaj yapıldı.
34. Karışım manyetik standda 2 dakika bekletildi.
35. Üstte oluşan 38 µl'lik süpernatant yeni bir tüpe alındı.
36. DNA konsantrasyonu Qubit cihazı ile ölçüldü. Her örnekten en az 500 ng DNA içerecek ve toplam hacmi 40 µl olacak şekilde havuzlandı.

İlk Hibridizasyon

37. 36.basamakta havuzlanan 40 µl DNA örneğine aşağıdaki içerikte hazırlanan karışım eklendi:
38. Tüpler, 280 xg hızda ve 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
39. Ardından PCR tüpleri termal siklör cihazına yerleştirilerek aşağıdaki sıcaklık döngüsüne tabi tutuldu:

İlk Yıkama

40. Hibridizasyon sonrası ürün 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
41. Her tüpe 250 µl Streptavidin Magnetic Beads (SMB) eklendi, ardından 20 kez pipetaj yapıldı.
42. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
43. Santrifüj 280 xg ve 20°C'de 1 dakika uygulandı.
44. Tüpler manyetik standda yerleştirilerek 2 dakika bekletildi.
45. Süpernatant uzaklaştırıldı, tüp standdan çıkarıldı.
46. Her tüpe 200 µl Wash Solution 1 (WS1) eklendi, 20 kez pipetaj yapıldı.

47. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
48. Süpernatant uzaklaştırıldı ve tüpler standdan çıkarıldı.
49. Aynı şekilde 200 µl Wash Solution 2 (WS2) eklendi, 20 kez pipetaj yapıldı.
50. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
51. Süpernatant çıkarıldı, tüpler standdan alındı.
52. 200 µl WS2 tekrar eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
53. PCR tüpleri termal siklir cihazına yerleştirilerek 42°C'de 30 dakika inkübe edildi.
54. İnkübasyon sonrasında ürün hızlıca manyetik standda alınıp 2 dakika bekletildi.
55. Süpernatant atıldı ve tüp standdan çıkarıldı.
56. 52–55. adımlar bir kez daha tekrarlandı.
57. 200 µl Wash Solution 3 (WS3) eklendi, 20 kez pipetaj yapıldı.
58. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
59. Süpernatant uzaklaştırıldı, tüp standdan çıkarıldı.
60. 57–59. adımlar tekrarlandı.
61. Ayrı bir PCR tüpünde şu şekilde bir karışım hazırlandı:
62. 60. basamaktaki ürüne 23 µl bu karışımdan eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
63. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.
64. 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
65. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
66. Üstteki 21 µl'lik süpernatant yeni bir tüpe alındı.
67. Üzerine 4 µl Elute Target Buffer 2 (ET2) eklendi ve 10 kez pipetaj yapıldı.

İkinci Hibridizasyon

68. 67. basamakta elde edilen 25 µl ürüne aşağıdaki bileşenler eklendi:
69. 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
70. Tüpler, aşağıdaki koşullarda termal siklir cihazında ikinci hibridizasyon için inkübe edildi:

İkinci Yıkama

71. Hibridizasyon sonrası ürün, 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
72. Her tüpe 250 µl Streptavidin Magnetic Beads (SMB) eklenip 20 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı.
73. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
74. 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj uygulandı.
75. Tüpler manyetik standda 2 dakika bekletildi.
76. Süpernatant uzaklaştırıldı, ardından tüpler standdan çıkarıldı.
77. Her tüpe 200 µl Wash Solution 1 (WS1) eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
78. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
79. Süpernatant uzaklaştırıldı, tüpler standdan çıkarıldı.
80. 200 µl Wash Solution 2 (WS2) eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
81. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
82. Süpernatant uzaklaştırıldı, standdan alındı.
83. 200 µl WS2 tekrar eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
84. Tüpler termal siklir cihazında 42°C'de 30 dakika inkübe edildi.
85. Ürün inkübasyondan çıkarılıp hızla manyetik standda 2 dakika bekletildi.
86. Süpernatant uzaklaştırıldı ve tüp standdan çıkarıldı.
87. 52–55. basamaklar bir kez daha tekrarlandı.
88. 200 µl Wash Solution 3 (WS3) eklendi ve 20 kez pipetaj yapıldı.
89. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
90. Süpernatant atıldı ve tüp standdan çıkarıldı.
91. 57–59. adımlar tekrar edildi.
92. Ayrı bir PCR tüpünde şu bileşenlerle bir karışım hazırlandı:
 93. 60. basamaktan elde edilen ürüne 23 µl bu karışım eklendi, ardından 20 kez pipetaj yapıldı.
 94. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
 95. 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
 96. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.
 97. Üstte kalan 21 µl süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı.
 98. Üzerine 4 µl Elute Target Buffer 2 (ET2) ilave edilerek 10 kez pipetaj yapıldı.

İkinci PCR Amplifikasyonu

99. 98.basamaktan elde edilen 25 µl karışımdan 20 µl alınarak, aşağıdaki bileşenlerle birlikte PCR için hazırlandı:
100. Karışım, 280 xg'de 20°C'de 1 dakika santrifüj edildi.
101. PCR tüpleri termal siklir cihazına yerleştirilerek aşağıdaki döngü uygulanarak amplifikasyon gerçekleştirildi:

Son Temizleme ve Ölçüm

102. PCR sonrası ürün, termal siklirden çıkarıldıktan sonra üzerine 90 µl AMPure XP Beads eklendi ve 10 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı.
103. Karışım oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
104. Tüpler manyetik standda alınarak 5 dakika bekletildi.
105. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı.
106. Manyetik standdan kaldırılmadan 200 µl %80 etanol eklendi ve 30 saniye bekletildi.
107. Etanol süpernatantı uzaklaştırıldı.
108. 106–107. adımlar tekrarlandı.
109. Boncuklar stand üzerinde bırakılarak oda sıcaklığında 15 dakika kuruması sağlandı.
110. Kuruyan boncuklara 30 µl Resuspension Buffer (RSB) eklendi ve 10 kez pipetaj yapıldı.
111. Karışım oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
112. Manyetik standda 5 dakika bekletildi.
113. Üstteki 28 µl'lik süpernatant dikkatlice yeni bir tüpe aktarıldı.
114. Tüm örneklerin DNA konsantrasyonları Qubit DNA ölçüm cihazı ile değerlendirildi.
115. Her bir kütüphaneden 15 ng DNA içerecek şekilde örnekler seçilerek uygun koşullarda kit yüklemesi gerçekleştirildi.
116. Hazırlanan kartuş, Illumina dizileme cihazına yerleştirilerek ilgili çalışma protokolü başlatıldı.

Verilerin İşlenmesi ve Varyantların Belirlenmesi:

WES ile elde edilen fastq datalar, BWA-MEM programı kullanılarak “hg19” referans genomuna göre hizalandı. Ardından ortaya çıkacak olan sam formatındaki data SamTools programı kullanılarak bam formatına dönüştürüldü. Bu noktadan sonra “GATK (Genome Analysis Toolkit) Best Practises 4” pipeline’ına uygun olarak veriler işlenecek işlenmiş bir bam dosyası ve varyant listesini içeren vcf dosyası elde edildi. Varyantlar AnnoVar kullanılarak anote edildi ve patojeniteleri değerlendirildi. Tüm bu işlemler sonucunda, hastalıktan sorumlu olabileceği düşünülen aday varyant veya varyantlar belirlendi, sonrasında bölgeye uygun primerler dizayn edilerek Saptanan varyantlar için aile segregasyon analizi yine Sanger dizi analizi ile gerçekleştirildi.

Çalışmalar aşağıdaki protokole uygun olarak devam etti.

Varyant Analizi Yöntemi (ACMG Kriterlerine Göre)

Bütün ekzon dizileme (WES) verileri, öncelikle kalite kontrol adımlarından geçirilerek filtrelenmiştir. Elde edilen varyantlar, aile bireylerinin fenotipleri ve kalıtım paternine uygun şekilde homozigot, heterozigot ve bileşik heterozigot formlarıyla değerlendirilmiştir. Varyant önceliklendirmesi yapılırken, popülasyon frekansı %0.5’in altında olan nadir varyantlar dikkate alınmış; bu amaçla gnomAD, 1000 Genomes Project, ExAC, ESP ve dbSNP gibi uluslararası genom veritabanları kullanılmıştır. Varyantların fonksiyonel etkileri, en az üç farklı in silico analiz aracı (PolyPhen-2, SIFT, MutationTaster vb.) ile öngörülmüş; ayrıca evrimsel korunmuşluk durumu PhyloP ve GERP++ algoritmalarıyla incelenmiştir. ACMG-AMP (2015) varyant sınıflandırma yönergeleri esas alınarak, her varyant patojenite açısından "patojenik", "muhtemelen patojenik", "belirsiz klinik öneme sahip", "muhtemelen iyi huylu" veya "iyi huylu" olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca, ilgili varyantların literatür taramaları yapılmış, ekspresyon profilleri ve fenotip-genotip ilişkileri göz önünde bulundurularak klinik önemi değerlendirilmiştir. Tüm bu

bütüncül analizler sonucunda, klinik fenotipten sorumlu olması muhtemel varyantlar raporlanmıştır.



Bulgular

Çalışmaya dâhil edilen toplam 8 hastanın 6'sı kız, 2'si erkekti. Yaşları doğumdan itibaren 1 gün ile 60 gün arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması ise 25,5 gündü.

Hastaların 3'ünde ebeveynler arasında akrabalık öyküsü mevcuttu. Uygulanan tüm ekzom dizi analizi (Whole Exome Sequencing, WES) sonucunda, beş hastada klinik bulgularla ilişkili patojenik ya da olası patojenik varyantlar saptandı (Olgu-1, Olgu-4, Olgu-5, Olgu-7 ve Olgu-8).Üç hasta (Olgu-5, Olgu-6 ve Olgu-7), tüm ekzom dizi analiz sonuçları elde edilmeden önce yaşamını yitirdi. Bir hasta (Olgu-1) WES sonucu çıktıktan sonra vefat etmiştir. Hastaların %50'sinde (4/8) klinik ile ilgili varyant saptanmıştır. Olguların WES sonuçlanma zamanı ortalaması 6 hafta idi. Analizler en kısa 4 haftada, en uzun 12 haftada sonuçlandı.

Tablo-4: Olguların klinik bulguları

Hasta No	Cinsiyet	Yaş/gün	Akrabalık	Klinik Özellikler	Son Durum	WES Sonuç Süresi
1	K	9	Evet	Distal artrogripoz, serebellar atrofi	Exitus, postnatal 3. ay	4 hafta
2	E	53	Evet	Metabolik asidoz,	18 aylık nöromotor gelişimi normal	12 hafta
3	K	18	Hayır	İmmünyetmezlik, intrauterin gelişme geriliği	19 aylık, immünyetmezlik nedeniyle takipli	4 hafta
4	E	60	Hayır	Dilate kardiyomiyopati	18 aylık DKM takipli	6 hafta
5	K	1	Hayır	Hidrops fetalis, polihidramniyos	Exitus, postnatal 1. gün	6 hafta
6	K	4	Hayır	Prematürite, surfaktan direnci	Exitus, postnatal 6. gün	4 hafta
7	K	45	Evet	Yarık damak, iskelet displazisi	Exitus, postnatal 53. gün	6 hafta
8	K	14	Hayır	hipertrofik kardiyomiyopati, trombositopeni	19 aylık takipli	7 hafta

Genetik analiz sonuçları değerlendirilen sekiz hastanın beşinde anlamlı bulgular saptanmıştır. 1 no'lu hastada, KMT2D geninde heterozigot c.5782+1G>A splice bölge varyantı tespit edilmiş olup, bu varyant ACMG kriterlerine göre “muhtemelen patojenik” olarak sınıflandırılmış ve Kabuki sendromu ile ilişkili bulunmuştur. 4 no'lu hastada TPM1 geninde heterozigot c.475G>A (p.Asp159Asn) missense varyantı saptanmış, varyant hem ClinVar hem de ACMG değerlendirmelerine göre patojenik olarak kabul edilmiş ve dilate kardiyomyopati ile ilişkilendirilmiştir. 5 no'lu hastada PTPN11 geninde heterozigot c.922A>G (p.Asn308Asp) missense varyantı tanımlanmış ve bu varyantın Noonan sendromu ile ilişkili, klinik olarak patojenik olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, 8 no'lu hastada da PTPN11 geninde heterozigot c.854T>C (p.Phe285Ser) varyantı saptanmış, bu değişiklik de Noonan sendromu ile uyumlu bulunmuştur.

7 no'lu hastada iki farklı gende homozigot varyantlar tespit edilmiştir. SH2B3 geninde c.685_691dup (p.Asp231Glyfs39) frameshift varyantı ACMG kriterlerine göre “muhtemelen patojenik” olarak sınıflandırılmış olup, eritrositoz (somatik), miyelofibroz (somatik) ve trombositemi (somatik) ile ilişkilendirilmiştir. Aynı hastada LOXL3 geninde saptanan c.1152del (p.Trp384) nonsense tipi homozigot varyantın da yine “muhtemelen patojenik” olduğu ve Stickler sendromu ile ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir. Diğer üç hastada (olgu-2, 3 ve 6) klinik tablo ile ilişkili olabilecek patojenik ya da olası patojenik varyant saptanmamıştır. Tablo-5 de mutasyon spektrumu gösterilmiştir.

Tablo-5: Olguların mutasyon spektrumu

Hasta No	Gen	DNA	Protein	Zigozite	Varyant Tipi	Clin Var	ACMG	İlişkili Hastalık
1	<i>KMT2D</i>	c.5782+1G>A	-	HT	Splice	LP, LB	LP	Kabuki Sendromu
4	<i>TPM1</i>	c.475G>A	p.Asp159Asn	HT	Missense	P	LP	Dilate Kardiyomiyopati
5	<i>PTPN11</i>	c.922A>G	p.Asn308Asp	HT	Missense	P	P	Noonan Sendromu
7	<i>SH2B3</i>	c.685_691dup	p.Asp231Glyfs*39	HO	Frameshift	-	LP	Eritrositoz (somatik), Miyelofibroz (somatik), Trombositemi (somatik)
	<i>LOXL3</i>	c.1152del	p.Trp384*	HO	Nonsense	NA	LP	Stickler Sendromu
8	<i>PTPN11</i>	c.854T>C	p.Phe285Ser	HT	Missense	P	P	Noonan Sendromu

Çalışmaya alınan hastalarda WES sonuçlarına göre ilaç değişikliği yapılmamıştır. Olgu-1de Kabuki sendromu klinik bulguları ile saptanan varyantın ilişkisini değerlendirmek için aile analizi yapılmıştır. Olgu-4 te saptanan varyantın aile içi taraması ve aile içi kardiyolojik değerlendirme yapılmıştır. Olgu-7 de aile analizleri yapılarak, saptanan varyantlarının sağlıklı kardeşte ve ebeveynlerde heterozigot olduğu gösterilmiştir. Olgu-8 de Noonan sendromu tanısı konulduktan sonra eşlik edebilecek transient Juvenil Miyelomonositik Lösemi (JMML) açısından kemil iliği biyopsisi yapılmış, aile taraması ve ek sistem bulguları değerlendirmesi yapılmıştır.

Aşağıda, her bir olguya ilişkin klinik, genetik ve radyolojik bulgular ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Olgu-1

Dokuz günlük kız hasta, doğum sonrası gelişen solunum sıkıntısı nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılarak izleme alınmıştır. Bebek, 37. gebelik haftasında, gravida 5, para 3, abortus 1, yaşayan çocuk sayısı 3 olan bir anneden sezaryen doğum ile 2.420 gram doğum ağırlığıyla dünyaya gelmiştir. Doğum sonrası 1. ve 5. dakikada yapılan APGAR değerlendirmesi sırasıyla 3 ve 6 olarak kaydedilmiştir. Doğumun hemen ardından dikkat çeken en önemli bulgulardan biri deserebre postürüdür.

Prenatal dönemde, gebeliğin son iki ayında polihidramnios saptanmıştır. Aile öyküsünde, anne ve baba arasında ikinci dereceden kuzen evliliği olduğu öğrenilmiştir. Hastanın sırasıyla 4, 7 ve 9 yaşlarında üç kardeşi bulunmaktadır. Dört yaşındaki kardeşte konuşma geriliği mevcuttur. Ayrıca, 9 yaşındaki kardeşin yenidoğan döneminde on gün süreyle solunum sıkıntısı nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yattığı bildirilmiştir.

Hastanın fizik muayenesinde boy uzunluğu 46 cm, baş çevresi 33 cm olarak ölçülmüş olup, intrauterin gelişme geriliği bulguları izlenmiştir. Ek olarak, yarık damak, her iki el bileğinde kontraktürler ve distal artrogripozis bulguları saptanmıştır. Birinci basamak metabolik tarama testleri ile kreatin kinaz düzeyi normal sınırlarda bulunmuştur. Beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemesinde serebellar atrofi izlenmiştir. Ekokardiyografi (EKO) Patent foramen ovale (PFO) bulguları mevcuttu. Göz muayenesi normaldi. Nöbet geçirmesi nedeniyle antiepileptik başlanmıştır. Hastadan mevcut bulgularıyla otozomal resesif genetik sendromlar açısından postnatal 9. gününde WES analizi gönderildi. Gönderildikten 4 hafta sonra sonuçlanan WES analizinde, KMT2D (NM_003482.4) geninde heterozigot c.5782+1G>A, splice site (ekzon-intron birleşim bölgesi) varyantı tespit edilmiştir. Bu ACMG kriterlerine göre LP olarak sınıflandırılmıştır. Ancak, CLINVAR veri tabanında bu varyant için hem LP, hem de LB bildirimler mevcuttur. Aile bireylerinde yapılan varyant taraması (segregasyon analizi) sonucunda, aynı genetik varyantın annede de bulunduğu belirlenmiştir. Hasta yenidoğan yoğunbakım takibinde multipl organ yetmezliği nedeniyle 3 aylıkken vefat etti.

Olgu-2:

Bir ay 23 günlük erkek hasta, metabolik asidoz, solunum sıkıntısı, elektrolit imbalansı ve akut böbrek yetmezliği tanıları ile yatırılarak takip edilmiştir. Prenatal öyküsünde, term gebelik sonucunda sezaryen ile 2.600 gram doğum ağırlığında dünyaya geldiği öğrenilmiştir. Doğum sonrası dönemde idrarda koyulaşma fark edilmesi üzerine hasta,

ailesi tarafından çocuk acil servisine götürülmüştür. Başvuru sırasında solunum sıkıntısı gelişmesi üzerine çocuk yoğun bakım ünitesine yatırılarak izlem altına alınmıştır.

Soygeçmişinde, anne ve baba arasında birinci dereceden kuzen evliliği olduğu öğrenilmiştir. Annenin daha önce iki düşük (abortus) öyküsü mevcuttur. Hastanın yaşayan iki sağlıklı kardeşi bulunmakta olup, bir kardeşi yenidoğan döneminde zorlu doğum sonrası hayatını kaybetmiştir.

Fizik muayene bulgularında palpebral ödem ve hepatosplenomegali saptanmıştır. Klinik tablo ve laboratuvar bulguları doğrultusunda metabolik bir hastalık ön tanısı ile WES yapılması planlanmıştır. Gönderildikten 12 hafta sonra sonuçlanan WES analizinde, hastanın mevcut klinik durumu ile ilişkili patojenik ya da olası patojenik varyant tespit edilmemiştir.

Hasta, klinik izlemi sırasında giderek düzelen genel durumu ve normalleşen laboratuvar parametreleri doğrultusunda, takip sürecinin tamamlanması ile taburcu edilmiştir. Taburculuk sonrası poliklinik kontrollerinde, 11 ve 18 aylık dönemlerde yapılan değerlendirmelerde, hastanın büyüme parametrelerinin yaşına uygun olduğu, nöromotor gelişiminin ise yaş düzeyinde ve normal sınırlar içinde olduğu gözlenmiştir.

Olgu-3:

35 yaşında, gestasyonel diyabet tanılı anneden, 35. gebelik haftasında, sezaryen doğum ile 3.650 gram 8/9 APGAR ile doğan kız hasta, doğum sonrası dönemde gelişen solunum sıkıntısı nedeniyle yenidoğanın geçici takipnesi ön tanısıyla yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılmıştır. Aile öyküsünde anne ve baba arasında akrabalık olmadığı, hastanın sağlıklı bir kardeşinin bulunduğu öğrenilmiştir. Fizik muayenesinde vücut ağırlığı 3.650 gram, boy uzunluğu 50 cm, baş çevresi ise 35 cm olup, yaşına ve gestasyonel haftasına göre persantil değerleri normaldi. Belirgin dismorfik yüz görünümü yoktu.

Yatışının 2. gününde gelişen bradikardi, solunum sıkıntısı ve sistemik enfeksiyon bulguları nedeniyle sepsis ön tanısıyla antibiyotik tedavisi başlanmış, yapılan kan kültüründe Klebsiella üremesi saptanması üzerine yenidoğanın geç sepsisi tanısı doğrulanarak tedavi sürdürülmüştür. Aynı dönemde bakılan lökosit sayısı $84.00 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ saptanmış yapılan periferik yaymada sola kayma görülmüş ve kontrolünde $16.00 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ 'e gerilemiştir. Kardiyak değerlendirme amacıyla yapılan EKO'da hafif

mitral yetersizliği, hafif triküspit yetersizliği ve patent duktus arteriyozus saptanmıştır. Sepsis tablosunun derinliği ve dirençli seyri nedeniyle immün yetmezlik yönünden ileri tetkik yapılan hastada CD15s düzeyi referansın altında bulunmuş, bu bulgu üzerine çocuk immünoloji bölümü tarafından lökosit adezyon defekti, alt tipi olarak da CD15s eksikliği ön tanılılarıyla izleme alınmıştır. Doğum sonrası 18. günde, olası kalıtsal immün yetmezlik sendromları açısından ileri genetik analiz amacıyla WES testi gönderilmiştir. Test sonucunun 4 hafta sonra elde edilen analizinde, hastanın mevcut klinik tablo ve fenotipi ile ilişkilendirilebilecek patojenik ya da olası patojenik varyant saptanmamıştır. Yenidoğan yoğun bakım süreci boyunca destek ve antibiyotik tedavileri tamamlanan hasta, bağışıklık sistemi değerlendirmelerinin ayaktan takip edilmesi planlanarak 1 ay 15 günlükken taburcu edilmiştir.

Olgu-4:

İki aylık erkek hasta, postnatal dönemde ağız çevresinde fark edilen morarma şikâyeti ile başvurmuştu.Yapılan fizik muayene ve kardiyolojik değerlendirmelerde kardiyomegali saptanması üzerine, ileri tetkik ve tedavi amacıyla çocuk yoğun bakım ünitesine yatırıldı.

Prenatal öyküsünde, term gebelik sonunda normal spontan doğum ile 3.600 gram doğum ağırlığında dünyaya geldiği, doğum sonrası dönemde ise sarılık nedeniyle fototerapi tedavisi aldığı öğrenildi. Anne ve baba arasında akrabalık bulunmamaktadır. Aile öyküsünden, doğumdan sonraki günlerde ağız çevresinde morarma gözlemledikleri, bu durumun yaklaşık 40. günden itibaren belirgin şekilde kötüleştiği ve bu nedenle doktora başvurdukları öğrenildi. Fizik muayenede belirgin dismorfik bulguya saptanmadı.

Hastaya yapılan EKO değerlendirmesinde dilate kardiyomiyopati (DKM) saptanmış ve bunun üzerine genetik kardiyomiyopati nedenleri açısından ileri analiz planlanmıştır. Postnatal 60. Gününde uygulananve gönderildikten 6 hafta sonra sonuçlanan WES analizinde, TPM1 (NM_001018005.2) geninde heterozigot c.475G>A (p.Asp159Asn) varyantı tespit edilmiştir. Bu varyant, ACMG kriterlerine göre “olası patojenik” olarak sınıflandırılmış olup, otozomal dominant (OD) geçiş gösteren kardiyomiyopati fenotipi ile ilişkilidir.

Yapılan segregasyon analizinde, bu varyantın ebeveynlerde bulunmadığı ve de novo olduğu gösterilmiştir.

Olgu-5:

Hidrops fetalis tanısı ile yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılan erkek hasta, postnatal birinci gününde kapsamlı şekilde değerlendirildi. Prenatal öyküsünde, anneye 32. gebelik haftasında polihidramnios tanısı konduğu, 36. gebelik haftasında ise hidrops fetalis bulguları eşliğinde doğum gerçekleştiği öğrenildi. Hasta, sezaryen ile 3.700 gram doğum ağırlığında, 49 cm doğum boyu ve 34,5 cm baş çevresi ile doğmuştu.

Anne ve baba arasında akrabalık yoktu. Doğum sonrası yapılan fizik muayenede seyrek kaş yapısı, hipertelorizm, epikantus, basık burun kökü ve geniş burun ucu ile karakterize dismorfik yüz bulguları dikkat çekmişti. Cilt altı dokularda belirgin ödem izlenmişti.

Transfontanel ultrasonografide beyin yapıları normal olarak raporlanmıştır. Abdominal ultrasonografide serbest sıvı saptanmıştı. Klinik bulgular doğrultusunda genetik etiyojolojiyi araştırmak amacıyla hastadan postnatal 1. gününde WES istendi. Ancak hasta, WES sonucu elde edilmeden önce yine postnatal 1. Gününde multisistem organ yetmezliği nedeniyle yaşamını yitirdi.

Gönderildikten 6 hafta sonra sonuçlanan WES analizinde, PTPN11(NM_002834.5) geninde heterozigot c.922A>G (p.Asn308Asp) varyantı tespit edilmiştir. Bu varyant, ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu-6

Otuz sekiz yaşındaki, gravida 2, para 1, yaşayan çocuk sayısı 0, kayıp sayısı 1 (G2P1Y0K1A1) olan gestasyonel diyabet tanılı anneden, 23 hafta 6 günlük gebelikte, sezaryen doğumla 1.720 gram doğum ağırlığında, 2/5/7 APGAR skorları ile doğan kız hasta, prematürite ve Rh uyuşmazlığı nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılarak izleme alındı.

Aile öyküsünde anne ve baba arasında akrabalık bulunmamaktaydı. Erken doğum riski nedeniyle doğum öncesinde antenatal steroid tedavisi uygulanmıştı. Fizik muayenede dismorfik özellik saptanmadı. Doğumdan sonra prematüriteye bağlı gelişen solunum sıkıntısı nedeniyle respiratuvar distres sendromu (RDS) ön tanısıyla hastaya sürfaktan

tedavisi uygulandı. Ancak klinik yanıt alınamaması üzerine sürfaktan metabolizma bozukluğu olabileceği düşünöldü.

Altta yatan genetik bir etiyojinin araştırılması amacıyla hastadan postnatal 4. Gününde WES istendi. Ancak hasta, postnatal 6.gününde WES sonucu elde edilmeden önce, solunum yetmezliği ve prematüriteye bağılı gelişen çoklu komplikasyonlar nedeniyle yaşamını yitirdi. WES analizi gönderildikten 4 hafta sonra analiz edildi.

WES analizi sonucunda, hastanın mevcut klinik tablosu ile ilişkilendirilebilecek patojenik ya da olası patojenik varyant saptanmadı.

Olgu-7:

28 yaşında, G3P2K1 olan anneden, 36. Gebelik haftasında , sezaryen ile 2.115 gram doğan kız hasta, antenatal dönemde yarık damak saptanması ve doğum sonrası gelişen solunum sıkıntısı nedeniyle 2 hafta süreyle dış merkez yenidoğan yoğun bakım ünitesinde takip edilmiştir. Hasta 45 günlükken, 5 gün önce başlayan ve günde 5 kez tekrarlayan, sarı renkli, az sulu ishal ve ateş yakınması ile dış merkezde yatırılmış, izlemde dışkılama sıklığı 12'ye kadar artmış, ateşi ise yatış sonrası 2 gün boyunca devam etmiştir. Kontrol kan tetkiklerinde metabolik asidoz ve laktat yüksekliği saptanmış, lökosit sayısı 95.330 / μ L olarak bulunması üzerine Ege üniversitesi çocuk yoğun bakım ünitesine kabul edilmiştir. Aile öyküsünde; anne ve baba arasında akrabalık olduğu, 5 yaşında hepatosteatoz şüphesi olan bir erkek kardeşin bulunduğu ve 3 yaşındaki kuzenin Sandhoff sendromu nedeniyle yaşamını yitirdiği öğrenilmiştir. Fizik muayenede vücut ağırlığı 2,9 kg (SDS: -2,9), boyu 48 cm (SDS: -3,11), baş çevresi 33 cm (SDS: -4,05) olarak ölçölmüştür. dismorfik yüz görünümü ve yarık damak mevcuttu. Metabolik tetkiklerde spesifik bir metabolik hastalığa yönelik bulgu saptanmamıştır. Klinik tabloya eşlik eden bulgular doğrultusunda, çocuk yoğun bakım yatışının 50. gününde, otozomal resesif geçişli genetik hastalıklar ön tanısı ile postnatal 45.günde WES testi gönderilmiştir. Hasta çocuk yoğun bakım ünitesinde takibi tamamlandıktan sonra servise alınmış fakat servis takibinden bir gün sonra gelişen solunum arresti ve yeniden ortaya çıkan metabolik asidoz tablosu üzerine tekrar çocuk yoğun bakım ünitesine devredilmiş, WES sonucu çıkmadan önce çoklu organ yetmezliği nedeniyle postnatal 53. gününde vefat etmiştir. Gönderildikten 6 hafta sonra sonuçlanan WES analizinde, klinik fenotip ile ilişkili olabilecek iki ayrı

gende homozigot düzeyde olası patojenik varyant saptanmıştır. Bunlardan ilki, LOXL3 (NM_005475.3) geninde homozigot c.1152del (p.Trp384*) varyantı olup, ACMG kriterlerine göre olası patojenik kabul edilmiş ve otozomal resesif geçişli miyopi ile Stickler sendromu ile ilişkili bulunmuştur. İkinci varyant, SH2B3 (NM_005475.3) geninde homozigot c.685_691dup (p.Asp231Glyfs*39) olup, yine ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmış ve literatürde akut lösemi ve çeşitli hematolojik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.

Olgu-8:

Yirmi altı yaşındaki, G1P0A1 olan, gestasyonel diyabet ve polihidramnios tanısı bulunan anneden, 36 hafta gebelikte, normal doğumla 3.126 gram doğum ağırlığında, 4/6 APGAR skoru ile doğan erkek hasta, doğum sonrası gelişen bradikardi, siyanoz ve solunum sıkıntısı nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılarak izleme alındı. Aile öyküsünde anne ve baba arasında akrabalık bulunmamaktaydı. Fizik muayenesinde hipertelorizm, basık burun kökü ve kısa boyun gibi dismorfik yüz bulguları ile alt ekstremitelerde peteşiyel döküntüler saptandı. Sol koanal atrezi izlendi. Laboratuvar bulgularında trombositopeni mevcuttu. Ekokardiyografide perimembranöz ventriküler septal defekt (VSD) ve hipertrofik kardiyomiyopati (HKMP) saptandı. Abdominal ultrasonografide bilateral renal morfoloji ve boyutlar normal bulunmuş olup, sol böbrekte renal pelvis anteroposterior çapı 7.5 mm ölçüldü ve santral kalikslerde dilatasyon ile üreteropelvik bileşke darlığı düşünüldü. Kranial bilgisayarlı tomografide bilateral sütür fraktürleri, sağ lateral ventrikül ve serebral akuadukt düzeyinde intraventriküler hemoraji ile bilateral tentorium serebellide subdural hematoma alanları izlendi. Takibinde ek kanama bulgusu gelişmedi. Klinik ve dismorfik bulguları ile Noonan sendromu ayırıcı tanıda düşünüldü ve alta yatan genetik bir etiolojinin araştırılması amacıyla hastadan postnatal 14. günde WES testi istendi. Yedi hafta sonra sonuçlanan analizde ön tanıya uygun olarak PTPN11 (NM_002834.5) geninde heterozigot c.854T>C (p.Phe285Ser) varyantı saptandı. Bu varyant, literatürde Noonan sendromu ile ilişkili olarak tanımlanmış olup, ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştı. Tanı doğrultusunda, Noonan sendromuna eşlik edebilen geçici transient JMML riski nedeniyle kemik iliği biyopsisi yapıldı ve normal olarak raporlandı. Genetik tanısı kesinleşen hasta, takip ve tedavi sürecinin ardından postnatal 2 ay 16 günlükken taburcu edildi.

Tartışma

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde genetik kökenli hastalıklar, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Klinik belirtilerin oldukça değişken olması ve birçok tablonun benzer semptomlarla seyretmesi, tanı sürecini güçleştirmekte; tanının çoğu zaman gecikmesine ya da ancak postmortem dönemde konulabilmesine yol açmaktadır (Michel et al., 2018; Wojcik et al., 2018).

Yenidoğan döneminde hastalıkların hızlı ilerleyebilme potansiyeli ve yüksek ölüm riski göz önünde bulundurulduğunda, tanının erken konulması ve zamanında müdahale, kritik durumdaki hastalar için hayati önem taşımaktadır (Wojcik et al., 2019).

Bu doğrultuda çalışmamızda, 3 ay altında, genel durumu kritik olan ve kökeninde genetik hastalık düşünülen hastalarda hızlı ve doğru tanı koymanın etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Hızlı yapılan WES analizinin literatüre baktığımızda tanı aralığı 1–3 hafta arasında değişmektedir (Chung et al., 2020). Çalışmamızda bu süre 6 hafta ortalama ile literatürden daha geç görünse bile, rutin vaktinde sonuçlanan WES analizine göre (ortalama 6 ay) oldukça hızlı sonuçlanmış ve tanı değeri %50 ile yine literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Raporlanan verilere göre, hızlı WES sağlık sistemine sağladığı tasarrufun yaklaşık %90'ı, hastanede yatış süresinin kısalması ve invaziv girişimlerin azaltılması sayesinde elde edilmektedir. Geriye kalan %10'luk kısmı ise mikrodizi gibi ek tanısal testlerin uygulanmasından kaçınılmasıyla sağlanan ekonomik katkıyı yansıtmaktadır (Kingsmore et al., 2024).

Avustralya'da yapılan ve 108 hastayı (medyan yaş 28 gün, aralık 0–17 yıl) içeren başka bir çalışmada, ultra hızlı ekzom sekanslama kullanılmıştır. Numune alımından rapora kadar ortalama süre 3,3 gün; hastaneye yatıştan rapora ortalama 17,5 gün geçmiştir. Bu çalışmada 55 (%51) hastada moleküler tanı konmuş; tanı almayan 53 hastanın da 6'sı (%11) klinik yönetimde değişiklik yaşamıştır. Moleküler tanısı olan 55 hastanın 42'si (%76), tanısı olmayan hastalardan sadece 6'sı (%11), ultra hızlı WES sonuçları ile klinik yönetimi değiştirmiştir. Ek olarak, 12 hastada (%11) hedefe yönelik tedavi, 14 hastada (%13) palyatif bakım, 19 hastada (%18) ise spesifik

komplifikasyonlar için izlem başlatılmıştır (Farnaes et al., 2018; Freed et al., 2020; Wu et al., 2021).

Bizim çalışmamızda hastaların 4 tanesinde klinik ile ilgili olabilecek patojenik veya olası patojenik varyant saptandı. Saptanan varyantlar ile mevcut tedavide bir değişiklik olmadı fakat mikroarray gibi tanıya yönelik maliyetli ek moleküler genetik tetkike gerek kalmadı. Bunun yanında Noonan tanısı alan hastada (Olgu-8) trombositopeninin ayırıcı tanısında genetik tanısından faydalanıldı. Olgu-4'te DKM tanısının genetik olarak kanıtlanması ile DKM ayırıcı tanısı için ek tetkik yapmaya gerek kalmadan takip ve tedavisi planlandı. Aynı hastanın aile içi kardiyak taraması ve aile analizi eş zamanlı planlandı. Aşağıda olgular ve genetik sonuçların tedaviye etkisi literatür eşliğinde sırasıyla tartışılmıştır.

Olgu-1:

Yarık damak, nöbet ve distal artrogripozis bulguları olan ilk hastada yapılan WES analizinde, KMT2D (NM_003482.4) geninde heterozigot c.5782+1G>A splice site varyantı tespit edildi. Saptanan varyant, ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmıştı; ayrıca ClinVar veri tabanında hem olası patojenik hem de olası benign olarak raporlanmıştı. KMT2D genindeki monoalelik patojenik varyantların Kabuki sendromu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Kabuki sendromu; doğumsal anomaliler, entelektüel yetersizlik ve tipik yüz özellikleri ile karakterizedir. Bu özellikler arasında doğum sonrası başlayan boy kısalığı, uzun palpebral aralıklar, alt göz kapaklarının dış üçte birlik kısmında dışa dönüklük, geniş ve basık burun ucu, belirgin kulak yapısı, yüksek veya yarık damak, skolyoz, kısa beşinci parmak, parmak izlerinin belirgin olması ve tekrarlayan otitis media gibi klinik bulgular yer alır (Adam et al., 2023).

Hastanın doğumsal anomalileri (yarık damak, artrogripozis) ve nöbet öyküsü Kabuki sendromu ile açıklanabilse de, sendromun tipik yüz görünümü hastada mevcut değildi. Literatürde şu ana kadar Kabuki sendromu ile ilişkili 600'ün üzerinde patojenik KMT2D varyantı tanımlanmış olup, bunların yaklaşık %84'ü erken protein sonlanmasına neden olan (truncating) mutasyonlardır (Bögershausen et al., 2016). Hastada saptanan splice site varyantı, protein fonksiyonunu bozma olasılığını artırmaktadır.

Ancak aynı varyantın annede de tespit edilmesi, varyantın patogenezdaki rolünü sorgulatmaktadır. Literatürde KMT2D varyantlarının tam penetrans gösterdiği bildirilmiş olsa da (Adam et al., 2023), ailevi vakalarda daha hafif fenotiplerle de seyredebileceği gösterilmiştir (Bögershausen et al., 2016). Bu nedenle anne klinik olarak yeniden değerlendirildi; öğrenme güçlüğü ya da doğumsal anomali saptanmadı, yalnızca down-slanting palpebral fissürler mevcuttu. Bu bulgular eşliğinde varyant, klinik tablo ile ilişkilendirilmedi; segregasyon analizi sonucunda asıl tanı koydurucu varyant olarak değerlendirilmedi, ancak takip önerildi ve aileye genetik danışmanlık verildi.

Olgu-2:

İkinci olgu, metabolik asidoz, solunum sıkıntısı, elektrolit dengesizliği ve akut böbrek yetmezliği nedeniyle genetik değerlendirme için danışılmıştır. Anne-baba arasında akrabalık bulunması nedeniyle otozomal resesif geçişli olası bir metabolik/genetik hastalık şüphesiyle hızlı WES planlanmıştır. Ancak hastanın izleminde tüm klinik bulgularında gerileme gözlenmiş ve WES analizinde klinikle ilişkili bir varyanta rastlanmamıştır. Hastanın 1,5 aylıkken gösterdiği semptomlar ve laboratuvar bulguları, klinik olarak sepsis yönünde değerlendirilmiştir.

Sepsis, genellikle bakteriyel kökenli sistemik enfeksiyon olarak tanımlanmakta olup, tanıda gecikme ciddi mortalite ile sonuçlanabilir. Yenidoğan döneminde sepsis, doğum sonrası ilk 7 gün içinde gelişen erken başlangıçlı sepsis ve 7–89 gün arasında gelişen geç başlangıçlı sepsis olarak ikiye ayrılır. Bu yaş grubunda sepsisin semptomları sıklıkla non-spesifiktir ve başlangıçta beslenme güçlüğü, letarji gibi genel belirtilerle kendini gösterebilir. En sık görülen klinik bulgular arasında respiratuvar distres, apne, taşipne, göğüs içi çekilmeler ve siyanoz yer almaktadır. Ayrıca, vücut ısısı düzensizlikleri (hipo- veya hipertermi), lökopeni veya lökositoz, hipoglisemi ya da hiperglisemi, laktat artışı, metabolik asidoz gibi bulgular da sepsisin ayırıcı tanısında önem taşır (Akin, 2021; Turkish Neonatal Society, 2017).

İlk 3 ayda sepsis, kalıtsal metabolik hastalıklarla benzer klinik tablo oluşturabileceğinden ayırıcı tanıda bu olasılık da mutlaka değerlendirilmelidir (Turkish Neonatal Society, 2017). Bu hastada uygun antibiyotik tedavisi ve destekleyici yaklaşımlarla klinik tablo tamamen gerilemiş; WES sonucunda metabolik veya kalıtsal bir hastalıkla ilişkili patojenik varyant saptanmamıştır. Bulguların

gerilemesi ve genetik analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, sepsis tanısı desteklenmiş ve ileri moleküler ya da metabolik tetkike gerek duyulmamıştır.

Olgu-3:

Yenidoğanın geçici takipnesi ön tanısı ile takibe alınıp, sepsis nedeniyle uzun süreli hastane yatışı olan hastada ön planda immünyetmezlik, onun da ayırıcı tanısında Lökosit adezyon defekti (LAD), ön planda da LAD2 CD15s eksikliği düşünülmüştü. Yapılan WES analizinde ise hastalık ile ilişkili olabilecek patojenik veya olası patojenik varyant saptanmadı.

LAD, hem humoral hem de hücrel immün yanıt bileşenlerini etkileyen, primer immün yetmezlikler arasında yer alan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Hastalığın patogeneğinde temel sorun, nötrofiller başta olmak üzere lökositlerin enfeksiyon bölgesine transmigasyonunun bozulmasıdır. Bu bozukluk, enfekte veya hasarlanmış dokularda yeterli immün hücre birikiminin sağlanamamasına ve buna bağlı olarak persistan enfeksiyonlara neden olur (Hanna & Etzioni, 2012).

LAD üç alt tipe ayrılır: Tip I LAD, ITGB2 geninde meydana gelen bialelik patojenik varyantlar sonucu $\beta 2$ integrin (LFA-1, Mac-1) ekspresyonunun azalması veya tamamen kaybı ile karakterizedir. Bu durum, nötrofillerin endotel hücrelerine adezyonunu ve diapedesini bozar. Tip II LAD, Sialyl-Lewis X (CD15s) yapı taşıının eksikliği nedeniyle E-selektin aracılı adezyon mekanizmasının bozulmasıyla ortaya çıkar; bu da nötrofillerin damar endoteline rolling yapmasını engeller. Tip II LAD2'ye SLC35C1 genindeki bialelik patojenik varyantlar sebep olmaktadır. Tip III LAD ise FERMT3 genindeki bialelik patojenik varyantlar sonucu kindlin-3 proteininde defekt gelişmesiyle, integrin aktivasyon kaskadının aksamasına yol açar. Bu alt tipte sadece lökosit fonksiyonları değil, trombosit fonksiyonları da etkilenebilir (Stepensky et al., 2015).

LAD olgularında tekrarlayan cilt ve mukozal enfeksiyonlar, göbek kordonunun geç düşmesi, iyileşmeyen yara enfeksiyonları ve nötrofili başlıca klinik bulgular arasında yer alır. Tanı immünofenotipleme, genetik analiz ve lökosit fonksiyon testleri ile konur. Erken tanı ve uygun tedavi yaşam süresi ve kalitesini artırmada kritik öneme sahiptir.

Hastada sepsis döneminde tedaviye dirençli olması, lökosit sayısının $84.00 \times 10^3/\mu\text{L}$ kadar yükselmesi ve lenfosit panelinde CD15s düşük saptanması ile LAD ön tanıda

düşünülmüş fakat LAD'den sorumlu genlerde herhangi bir patojenik varyanta rastlanmamıştır. WES'in tanı koyma değeri %50 olduğu için hastada mikroarray gibi farklı moleküler tetkikler ve aday genler açısından yıllık reanaliz planlanmıştır.

Olgu-4:

Dilate kardiyomiyopati tanısı, sol ventrikül dilatasyonu ile birlikte sistolik disfonksiyonun saptanmasıyla konur. Sistolik disfonksiyon, miyokard kontraktilitesinde azalma ile tanımlanır ve genellikle ejeksiyon fraksiyonunun %50'nin altında olması şeklinde değerlendirilir. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, iki boyutlu ekokardiyografi ya da kardiyak MRG ile ölçülmekte olup tanıda en sık kullanılan parametredir.

Çalışmaya alınan hastada DKM tanısı postnatal 2. ayda konmuş olup, hızlı WES analizi ile kısa sürede altta yatan etiyoloji belirlenebilmiştir. TPM1 geninde saptanan heterozigot c.475G>A (p.Asp159Asn) varyantı daha önce ClinVar veritabanında hem hipertrofik hem de dilate kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmiş olup, klinik tablo ile ilişkisi gösterilmiştir.

TPM1 geni, sarkomer yapısında yer alan ve aktin-miyozin etkileşimini düzenlemenin yanı sıra ince filamentlerin stabilizasyonunu sağlayan alfa-tropomiyozin 1 proteinini kodlamaktadır. Bu genle ilişkili patojenik varyantlar; sol ventrikül nonkompasyon kardiyomiyopatisi (LVNC) (Chang, 2011; Halder et al., 2024), HKM ve DKM (Herkert, J. C., et al., 2018) gibi farklı kardiyomiyopati fenotiplerine sebep olmaktadır.

Hastada saptanan varyant daha önce literatürde 7 kez bildirilmiştir. Kelle ve arkadaşları, hastamızda saptanan aynı varyantı sporadik bir LVNC –Ebstein anomalisi olgusunda tanımlamış ve bu genin LVNC –Ebstein anomalisi patogenezinde rol oynayabileceğini öne sürmüştür (Kelle et al., 2016). Johanna ve arkadaşlarının, DKM tanılı hastalar ile yaptığı derlemede de aynı varyantın DKM ile ilişkili olarak raporlandığı görülmektedir (Herkert et al., 2018).

Bu vakalar doğrultusunda, saptanan varyantın ekspresivite değişkenliği gösterdiğinden söz edilebilir. Olguya erken tanı konulması, DKM etiopatogenezini belirlemek amacıyla yapılacak birçok metabolik tetkikin gerekliliğini ortadan kaldırmış ve hastanın takip ile rehabilitasyonunun erken dönemde planlanabilmesini

sağlamıştır. Varyantın de novo olarak saptanması sayesinde aileye sağlıklı ve güvenilir bir genetik danışmanlık sunulabilmiştir.

Olgu-5/8

Çalışmaya alınan 2 olgunun (Olgu-5 ve 8) tanısı Noonan sendromu olarak kesinleşmiştir. Olgu-5 postnatal birinci günde hidrops fetalis nedeniyle kaybedilmiştir. Olgu 8 ise 19 aylık olup poliklinik takiplerine devam etmektedir.

Noonan sendromu; hipertelorizm, düşük kulak, boy kısalığı, konjenital kalp hastalıkları ve değişken düzeyde gelişimsel gecikmeyle seyreden, multisistemik bir genetik hastalıktır. Ek olarak çeşitli koagülasyon bozuklukları, lenfatik sistem displazileri, HKM ve oküler anomaliler de hastalığa eşlik edebilir (Roberts, Allanson, Tartaglia, & Gelb, 1993). Noonan sendromu genetik heterojen bir hastalık grubu olup *BRAF*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *RAF1*, *RASA2*, *RIT1*, *RRAS2*, *SOS1* veya *SOS2* genlerindeki monoallelik , *LZTR1* genindeki monoallelik veya biallelik patojenik varyantlar nedeniyle oluşur. Noonan sendromu tanılı hastaların %50 sinde *PTPN11* geninde hastalık ile ilişkili varyant saptanmıştır.

Noonan sendromlu yenidoğanlarda sık görülen prenatal bulgular arasında polihidramniyos, artmış ense kalınlığı ve hidrops fetalis gibi lenfatik sistem anormallikleri yer almaktadır. Yüz bulguları yenidoğan döneminde daha belirsiz olabilir; ancak geniş alın, düşük saç çizgisi, düşük yerleşimli kulak, hipertelorizm, ptosis ve epikanthus beklenen dismorfik bulgulardır.

Çalışmamızda da tanı alan 2 olguda hipertelorizm dismorfik bulgu olarak not edilmişti. Olgu-5 hidrops fetalis nedeniyle vefat etmiş. Olgu-8 de de HKM, trombositopeni gibi Noonan sendromunda beklenen bulgular saptanmış ve ön tanıda Noonan sendromu düşünülmüştür.

Noonan sendromunda *BRAF*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MRAS*, *NRAS*, *RAF1*, *RASA2*, *RIT1*, *RRAS2*, *SOS1* veya *SOS2* genlerinde fenotip genotip korelasyonu bulunmazken, *PTPN11* için bazı mutasyonlarda fenotip tahmini yapılabilmektedir. *PTPN11* geninde belirli kodonlarda (özellikle 61, 71, 72 ve 76) saptanan germline patojenik varyantların, lösemik transformasyon riskiyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu varyantlar, Noonan sendromu tanısı almış bireyler arasında JMML gelişme riski taşıyan özel bir alt grubu tanımlamada önemli genetik belirteçler olarak öne çıkmaktadır (Niihori et al., 2005). Özellikle p.Asn308Asp varyantını taşıyan

bireylerin, bilişsel gelişimlerinin daha iyi olduğu bildirilmiştir. [Jongmans et al., 2004]. Ayrıca, p.Gly60del varyantı taşıyan bir hastada, konjenital hidrops fetalis ve JMML ile seyreden ağır fenotipte Noonan sendromu rapor edilmiştir (Yoshida et al., 2004). Benzer şekilde, p.Asp61del varyantı da literatürde tanımlanmış olup, bu mutasyonun ise daha tipik ve hafif seyirli Noonan sendromu fenotipi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lee et al., 2005b).

Çalışmamızdaki hastalardan Olgu-5 te p.Asn308Asp varyantı saptanmıştır , fakat literatürden farklı ağır bir klinik seyri olmuş ve hidrops fetalis nedeniyle vefat etmiştir. Saptanan varyantların ikisi de ekzon 8 dedir.

İlk hasta postnatal 1. günde kaybedildiği için tanı sadece genetik danışmanlıkta işe yaramıştır. 2. Hastada ise trombositopeni olması nedeniyle JMML açısından ek tetkik planlanmış, taburculuk sonrası multidisipliner takibi planlanmış. Trombositopeni Noonan sendromu ile ilişkili olarak bulunmuş ve ek tetkik gerekmemiştir. HKM etyolojisi için ek tetkik ihtiyacı ortadan kalkmıştır.

Yenidoğan döneminde hidrops fetalis, HKM, pulmoner stenoz trombositopeni ve hipertelorizm birlikteliğinde Noonan sendromu ilk akla gelmesi gereken genetik sendromlardan biridir.

Olgu-6

Çalışmaya alınana 6. hasta 23 gestasyonel haftada prematüre olarak doğmuş, sürfaktan tedavisine yanıt alınamaması nedeniyle sürfaktan metabolizmasıyla ilgili bozukluk olabileceği düşünülmüş ve postnatal 6. günde septik şok, solunum yetmezliği nedeniyle kaybedilmişti.

Sürfaktan metabolizmasındaki genetik bozukluklar, yenidoğan döneminde görülen ciddi solunum sıkıntılarının nadir ancak önemli nedenlerindedir. Bu bozukluklar genellikle SFTPb, SFTPc, ABCA3 ve NKX2-1 genlerindeki patojenik varyantlarla ilişkilidir. SFTPb (surfactant protein B) genindeki bialelik patojenik varyantlar, doğumdan hemen sonra başlayan ve ventilasyon tedavisine yanıtız seyreden ağır respiratuvar distres sendromu ile karakterizedir; bu durum genellikle yaşama bağdaşmaz, hastalık otozomal resesif olarak kalıtılır. SFTPc (surfactant protein C) genindeki monoalelik patojenik varyantlar ise yenidoğan döneminden erişkinliğe kadar değişen yaşlarda interstisyel akciğer hastalığı ile kendini gösterebilir, otozomal

dominant olarak kalıtılır. ABCA3 genindeki bialelik patojenik varyantlar ise otozomal resesif kalıtılan; hem sürfaktan bozukluğu hem de ilerleyici interstisyel akciğer hastalığına neden olan bir tablo ile ilişkilidir. ABCA3 geni, tip II alveoler hücrelerde sürfaktan lipidlerinin taşınmasından sorumlu olup mutasyonları, surfaktan eksikliği ve dirençle sonuçlanabilir. Ayrıca NKX2-1 genindeki monoalelik patojenik varyantlar , “brain–lung–thyroid” sendromu olarak bilinen bir tabloya yol açmakta; solunum sıkıntısı, hipotiroidi ve nörolojik semptomların bir arada görülmesine neden olmaktadır. Bu genetik hastalıkların tanısı, klinik şüphe doğrultusunda genetik testler ile konur ve sürfaktan eksikliği şüphesinde moleküler analizler, erken tanı ve yönetim açısından büyük önem taşır. (Nogee, 2004; Whitsett & Weaver, 2002).

Bu doğrultuda hastadan hızlı WES gönderilmiş fakat, sürfaktan metabolizmasından sorumlu genlerde veya solunum sistemi ile ilgili hastalığı açıklayabilecek diğer genlerde patojenik veya olaso patojenik varyanta rastlanmadı. WES sonucunun normal gelmesi, ileri prematürite durumunda da ağır RDS tablosunu ile ilgili olabileceği gibi, mevcut tablodan sorumlu aday genler de akılda tutulmalıdır.

Olgu-7

WES analizi sırasında hastaya ait klinik ön tanının doğru ve net bir şekilde belirlenmesi, hem genetik analiz sürecinin kalitesini artırmakta hem de tanıya ulaşma süresini önemli ölçüde kısaltmaktadır. Özellikle fenotip-genotip korelasyonunun güçlendirilmesi açısından, klinik bulguların genetik analizle uyumlu biçimde eşleştirilmesi, varyantların yorumlanmasında büyük katkı sağlamaktadır. Ancak pratikte, birçok genetik hastalığın klinik belirtilerinin birbiriyle örtüşmesi ve fenotipik spektrumun oldukça geniş olması nedeniyle, klinik ön tanı koymak her zaman kolay değildir. Bazı hastalarda kalıtım modeli ve semptomlar genetik bir etiyojijiyi düşündürse de, klinik bir ön tanı koymak her zaman mümkün olmamaktadır.

Bu tür durumlarda, genetik testin kapsamının mümkün olduğunca geniş tutulması önem kazanmaktadır. Hedefli gen panellerinden ziyade, geniş kapsamlı genetik analiz yöntemlerinin (örneğin WES veya WGS) tercih edilmesi, tanı şansını artırabilir.

Kapsamlı analizlerde elde edilen varyantların klinik ön tanı olmadan yorumlanması güç olabileceğinden, bu varyantlar sıklıkla geriye dönük fenotipleme yaklaşımı ile yeniden değerlendirilir. Varyantın patojenitesi ve fenotip ile ilişkisi belirlendikten sonra, tanıyı destekleyici ileri klinik tetkikler (görüntüleme, biyokimyasal testler, doku biyopsileri vb.) veya aile bireylerine yönelik segregasyon analizleri gerekebilir. Bu nedenle, genetik testlerin sadece teknik bir analiz değil, multidisipliner ve dinamik bir süreç olduğu unutulmamalı; klinisyen, çocuk genetik uzmanı ve laboratuvarın iş birliği içinde çalışması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmaya dâhil edilen 7. olguda da benzer bir klinik tablo mevcuttur. Metabolik asidoz, ishal ve doğumsal anomalilerin varlığı (yarık damak); belirgin lökositozun eşlik etmesi, anne-baba arasında akrabalık bulunması, bir kardeşin hepatosteatoz nedeniyle izleniyor olması ve aynı zamanda bir kuzenin metabolik hastalık tanısıyla tedavi almış olması, otozomal resesif geçişli genetik veya metabolik sendromları ön planda düşündürmüştür. Ancak kapsamlı laboratuvar değerlendirmelerine rağmen spesifik bir metabolik veya genetik ön tanı konulamamıştır.

Bu kapsamda yapılan WES analizi, nadir görülen ve yüksek patojenite potansiyeline sahip varyantların belirlenmesi amacıyla çeşitli filtreleme yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda, klinik tablo ile ilişkili olabileceği düşünülen ve ileri düzey fenotipik değerlendirme ile birlikte segregasyon analizine ihtiyaç duyulan iki homozigot varyant tespit edilmiştir.

Varyantlardan ilki LOXL3 (NM_005475.3) geninde homozigot c.1152del (p.Trp384*) varyantıdır. LOXL3 OR miyopi ye sebep olmaktadır. Son yıllarda otozomal resesif geçişli Stickler sendromuna yol açabilen genetik bir defekt olarak da tanımlanmaktadır (Chan et al., 2019). LOXL3, kollajen ve elastin liflerinin kovalent çapraz bağlanmasını katalize eden bir lizil oksidaz ailesi üyesi olup, bu enzimin eksikliği dokularda güçsüz bağ yapısına ve konnektif doku bozukluklarına zemin hazırlar . Bialelik LOXL3 mutasyonları olan olgularda yüksek miyopi, yarık damak, vitreoretinopati ve eklem anormallikleri gibi klasik Stickler sendromu fenotipi ile uyumlu uzamış klinik spektrum gözlemlenmiştir. (Chan et al., 2019). Bu bağlamda, hastada gözlenen c.1152del (p.Trp384*) varyantı, Stickler sendromu ile uyumlu klinik bulgular (yarık damak)ile birleştiğinde, bu genin otozomal resesif formunda etiyolojik rol oynadığı konusunda güçlü kanıtlar sunmaktadır. Bu nedenle aile segregasyonu

yapılmıştır. Varyant hastanın annesinde, babasında ve sağlıklı kardeşinde heterozigot olarak tespit edilmiştir.

Hastada saptanan 2. Varyant ise SH2B3 geninde saptanan homozigot c.685_691dup (p.Asp231Glyfs39) varyantıdır. SH2B3 geni, hematopoetik kök hücrelerde eksprese edilen adaptor protein LNK'i kodlar ve JAK/STAT, MPL, TPO gibi sinyal yollarını negatif regüle ederek hematopoez sürecini kontrol eder. (Morris et al., 2021). Bu regülasyon sayesinde aşırı hücre çoğalımı ve inflamatuvar yanıtlar önlenir. Hastada saptanan homozigot c.685_691dup (p.Asp231Glyfs39) varyantı, daha önce akraba evliliği bulunan bir ailede tanımlanmıştır. Bu iki kardeşle büyüme geriliği, hafif gelişimsel gecikme ve otoimmün hastalıklar izlenmiştir. Olgulardan biri yaşamın 4. haftasında periferik lökositoz, %20'nin altında blast oranı, trombositopeni ve kemik iliğinde megakaryosit eksikliği ile seyreden JMML-benzeri bir fenotip geliştirmiştir. (Arfeuille et al., 2023). Klinik veriler, bu mutasyonun özellikle trombositoz, nötrofil, ilerleyici myeloproliferatif fenotip ve JMML benzeri tablolarla ilişkili olduğunu göstermektedir (Arfeuille et al., 2023). Hastadaki lökositozun çok belirgin olması hematolojik bozuklukların da akılda tutulması ve 2 farklı kliniğin eş zamanlı görülebileceğini düşündürmektedir.

Aile üyeleri 2. Varyant için de taşıyıcı olarak bulunmuştur. Bu bulgular doğrultusunda, hastada tespit edilen her iki homozigot varyantın (LOXL3 ve SH2B3) klinik tabloyu açıklamada katkı sağladığı düşünülmektedir. Özellikle otozomal resesif geçişli bu iki varyantın fenotiple uyumlu olması ve aile bireylerinde heterozigot taşıyıcılığın gösterilmesi, varyantların patojenitesini desteklemektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu araştırmada, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen sekiz farklı olgu ile gerçekleştirilen hızlı WES, genetik tanının hem süresini kısaltmada hem de klinik kararlara yön vermede önemli bir araç olduğunu ortaya koymuştur. İncelenen sekiz olgudan beşinde (%62,5) fenotiple uyumlu patojenik ya da muhtemel patojenik varyantların saptanması, hızlı WES'in tanısal etkinliğini somut bir şekilde göstermektedir. Tanı konabilen vakalarda LOXL3 ve SH2B3 genlerindeki varyantlar otozomal resesif geçişli sendromlarla uyumluluk göstermiş; KMT2D, TPM1 ve PTPN11 genlerindeki varyantlar ise sırasıyla Kabuki sendromu, dilate kardiyomiyopati ve Noonan sendromu tanılarını desteklemiştir.

Tanı alınamayan üç vakada ise elde edilen bulguların güncel genetik veri tabanlarıyla eşleşmemesi, genetik etiyolojinin halen tam olarak aydınlatılamamış olabileceğini ya da mevcut varyantların etkisinin henüz bilinmediğini düşündürmektedir. Bu durum, WES analizlerinin dinamik bir süreç olduğunu, zamanla gelişen bilimsel bilgiler ışığında yeniden yorumlanabileceğini ve düzenli güncellemelerin önem taşıdığını ortaya koymaktadır.

Araştırma sonuçları, özellikle ileri düzey yenidoğan bakım gereksinimi olan ve etiyolojisi netleştirilememiş vakalarda hızlı ekzom analizinin entegre edilmesinin tanısal süreci hem hızlandırdığını hem de sağlık sistemi üzerindeki tanısal belirsizlik ve maliyet yükünü azalttığını göstermiştir. Ayrıca, bu genetik verilerin genetik danışmanlık ve taşıyıcılık taraması gibi ikincil uygulamalarda da yol gösterici olduğu düşünölmektedir. Sonuç olarak, hızlı ekzom dizi analizleri, nadir genetik hastalıkların erken tanı ve yönetiminde giderek artan bir rol üstlenmekte; multidisipliner klinik-genetik yaklaşımın bir parçası olarak sağlık hizmetlerine değer katmaktadır.

Öneriler

Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda aşağıdaki öneriler sunulmaktadır:

1.Hızlı WES uygulamalarının yaygınlaştırılması: Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde etiyolojisi açıklanamayan olgular için hızlı ekzom dizi daha sık kullanılmalıdır.

2.Genetik danışmanlık hizmetlerinin güçlendirilmesi: hızlı WES ile elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ailelere yönelik kapsamlı genetik danışmanlık hizmetleri verilmesi, doğru bilgilendirme ve psikososyal destek açısından önem taşımaktadır.

3.Multidisipliner iş birliğinin teşvik edilmesi: Çocuk genetik uzmanları ve ilgili bölümün klinisyenleri ile güçlü bir iletişim ağı oluşturularak, tanı süreçlerinin daha hızlı ve etkili yönetilmesi sağlanmalıdır.

4.ekonomik analizlerin yapılması: hızlı WES'in sağlık sistemine maliyet-etkinliğini ortaya koymak amacıyla geniş ölçekli ekonomik değerlendirme çalışmalarına ihtiyaç vardır.

5.Eğitim ve farkındalık çalışmaları: Hekimlerin genetik tanı yöntemleri hakkında bilgilendirilmesi ve farkındalık düzeylerinin artırılması, bu testlerin daha etkin kullanılmasına katkı sağlayacaktır.



Kaynaklar

Adam, M. P., Hudgins, L., Sobreira, N., & Baylor College of Medicine. (2023). Kabuki syndrome. In R. A. Pagon et al. (Eds.), *GeneReviews*® [Internet]. University of Washington, Seattle. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1308/>

Alanen, A., & Sujansky, E. (2016). Medical genetics for the practicing obstetrician. *The Ochsner Journal*, 20(1), 38–45. [PubMed Central ID: PMC6982626].

Akin, M. (2021). Clinical features and diagnosis of neonatal sepsis. *Journal of Neonatal Research and Reviews*, 2(1), 10–18. <https://doi.org/10.47739/2641-774X/1015>

Arfeuille, C., Lapillonne, H., Nguyen-Khac, F., Hunault, M., Grand, F., Natchair, A., Vachey, C., Robert, A., Fradin, M., & Galambrun, C. (2023). Germline bi-allelic SH2B3/LNK alteration predisposes to a neonatal juvenile myelomonocytic leukemia-like disorder. *Haematologica*, 109(8), 2542–2546. <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.281228>

Berisha, S. Z., Shetty, S., Prior, T. W., & Mitchell, A. L. (2020). Cytogenetic and molecular diagnostic testing associated with prenatal and postnatal birth defects. *Birth Defects Research*, 112(4), 293–306. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1648>

Bögershausen, N., Wollnik, B., Sowińska-Seidler, A., Krawczynski, M. R., et al. (2016). Mutation update for Kabuki syndrome genes KMT2D and KDM6A and further delineation of X-linked Kabuki syndrome subtype 2. *Human Mutation*, 37(9), 847–864. <https://doi.org/10.1002/humu.23016>

Chan, T. K., Wong, A. C., Cheung, J. C., Tam, P. K. H., & Lai, W. H. (2019). LOXL3 novel mutation causing a rare form of autosomal recessive Stickler syndrome. *Clinical Genetics*, 95(2), 325–328. <https://doi.org/10.1111/cge.13474>

Chang, B., Nishizawa, T., Furutani, M., Fujiki, A., Tani, M., Kawaguchi, M., Ibuki, K., Hirono, K., Taneichi, H., Uese, K., Onuma, Y., Bowles, N. E., Ichida, F., Inoue, H., Matsuoka, R., & Miyawaki, T.; Noncompaction Study Collaborators. (2011). Identification of a novel TPM1 mutation in a family with left ventricular

noncompaction and sudden death. *Journal Name, Volume(Issue)*, page range.
<https://doi.org/XXXX>

Chung, C. C. Y., Leung, G. K. C., Mak, C. C. Y., Fung, J. L. F., Lee, M., & Pei, S. L. C. (2020). Rapid whole-exome sequencing facilitates precision medicine in paediatric rare disease patients and reduces healthcare costs. *Lancet Regional Health – Western Pacific, 1*, 100004. <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2020.100004>

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sitogenetik Laboratuvarı Arşivi.

Farnaes, L., Hildreth, A., Sweeney, N. M., Clark, T. A., Clark, M. M., Kingsmore, S. F., & Willig, L. K. (2018). Rapid whole-genome sequencing decreases infant morbidity and cost of hospitalization. *NPJ Genomic Medicine, 3*(1), 10. <https://doi.org/10.1038/s41525-018-0049-4>

Freed, A. S., Aldubayan, S. H., Beijer, E., Schwartz, T. S., Maloney, K. A., Dimmock, D., & Farnaes, L. (2020). The impact of rapid exome sequencing on medical management of critically ill children. *The Journal of Pediatrics, 226*, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.07.021>

Freed, A. S., Miller, D. T., Flynn, L., Potts, D. A., Brandt, T., Shannon, N., ... & Agrawal, P. B. (2020). The impact of rapid exome sequencing on medical management of critically ill children. *The Journal of Pediatrics, 226*, 202–212.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.06.020>

Genome.gov. (2025). Rare diseases and genetic testing. National Human Genome Research Institute. <https://www.genome.gov/>

Genome.gov. (2025). Talking Glossary of Genetic Terms. National Human Genome Research Institute. <https://www.genome.gov/genetics-glossary>

Genomics in Rare Diseases: An Overview for the Patient, Family and Non Specialist Healthcare Professional. (2023). Future Rare Diseases. <https://doi.org/10.2217/frd-2023-0019>

Genetics Home Reference. (2022). What is a gene mutation and how do mutations occur? U.S. National Library of Medicine. <https://ghr.nlm.nih.gov/>

Ghannam, M. G., & Varacallo, M. A. (2023, July 30). Biochemistry, polymerase chain reaction. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535453/>

Gubbels, C. S., VanNoy, G. E., Madden, J. A., Korf, B. R., & Yu, T. W. (2020). Prospective, phenotype-driven selection of critically ill neonates for rapid exome sequencing is associated with high diagnostic yield. *Genetics in Medicine*, 22(4), 736–744. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0708-6>

Gubbels, C. S., VanNoy, G. E., Madden, J. A., Korf, B. R., & Yu, T. W. (2020). Prospective, phenotype-driven selection of critically ill neonates for rapid exome sequencing is associated with high diagnostic yield. *Genetics in Medicine*, 22(4), 736–744. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0754-9>

Gürkan, H., & Satkın, N. B. (2025). The importance of genetic diagnosis in rare diseases. *Balkan Medical Journal*, 42(2), 92.

Halder, S. S., Rynkiewicz, M. J., Kim, L., Barry, M. E., Zied, A. G. A., Sewanan, L. R., Kirk, J. A., Moore, J. R., Lehman, W. J., & Campbell, S. G. (2024). Distinct mechanisms drive divergent phenotypes in hypertrophic and dilated cardiomyopathy-associated TPM1 variants. *Journal of Clinical Investigation*, 134(24), e179135. <https://doi.org/10.1172/JCI179135>

Hanna, S., & Etzioni, A. (2012). Leukocyte adhesion deficiencies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1250(1), 50-55. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06381.x>

Herkert, J. C., et al. (2018). Toward an effective exome-based genetic testing strategy in pediatric dilated cardiomyopathy. *Genetics in Medicine*, 20(11), 1374-1386. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.252>

Hong, J., Lee, D., Hwang, A., Kim, T., Ryu, H.-Y., & Choi, J. (2024). Rare disease genomics and precision medicine. *Genomics & Informatics*, 22(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s44342-024-00032-1>

Institute of Medicine (US) Committee on Accelerating Rare Diseases Research and Orphan Product Development. (2010). Rare diseases and orphan products: Accelerating research and development (M. J. Field & T. F. Boat, Eds.). Washington, DC: National Academies Press. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56194/>

Jongmans, M. C. J., van Ravenswaaij-Arts, C. M. A., Pitt, M., Hoogerheide, L., Lindhout, D., Smeets, D. F. C. M., ... & de Klein, A. (2004). Mutations in the PTPN11 gene are a frequent cause of Noonan syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 74(3), 523–531. <https://doi.org/10.1086/383029>

Kelle, A. M., et al. (2016). Ebstein anomaly, left ventricular non-compaction, and early onset heart failure associated with a de novo α -tropomyosin gene mutation. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(8), 2186-2190. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37768>

Kingsmore, S. F., Nofsinger, R., & Ellsworth, K. (2024). Rapid genomic sequencing for genetic disease diagnosis and therapy in intensive care units: A review. *NPJ Genomic Medicine*, 9, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41525-024-00404-0>

Lee, J., Schwartz, T., Na, & De Leon, D. D. (2005b). Characterization of PTPN11 mutation (p.Asp61del) associated with mild Noonan syndrome phenotype. *Journal of Medical Genetics*, 42(12), e69. <https://doi.org/10.1136/jmg.2005.031234>

MedlinePlus Genetics. (2023). Genetics glossary. U.S. National Library of Medicine. <https://medlineplus.gov/genetics>

Meng, L., Pammi, M., Saronwala, A., et al. (2017). Use of exome sequencing for infants in intensive care units: ascertainment of severe single-gene disorders and effect on medical management. *JAMA Pediatrics*, 171(12), e173438. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.3438>

Morimoto, M., & Satoh, K. (2022). Application of next-generation sequencing technology in prenatal diagnosis and rare disease diagnosis. *Genes & Genomics*, 44, 1027-1035. <https://doi.org/10.1007/s13258-022-01249-3>

Morris, R., Marshall, E., Lim, A., Yong, A. S. M., & Mullally, A. (2021). The role of LNK (SH2B3) in the regulation of JAK-STAT signalling in haematopoiesis. *Pharmaceuticals*, 15(1), 24. <https://doi.org/>

O’Roak, B. J., et al. (2012). Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations. *Nature*, 485(7397), 246–250. <https://doi.org/10.1038/nature10989>

Quinzii, C. M., & Hirano, M. (2010). Primary mitochondrial disorders. *Seminars in Neurology*, 30(3), 311–321. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1253233>

Republic of Turkey Ministry of Health. (2025). *Turkish rare diseases action plan (2025–2030)*. <https://www.saglik.gov.tr/rare-diseases-action-plan>

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., et al. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation. *Genetics in Medicine*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>

Roberts, A. E., Allanson, J. E., Tartaglia, M., & Gelb, B. D. (1993). Noonan Syndrome. In M. P. Adam et al. (Eds.), *GeneReviews® [Internet]*. University of Washington, Seattle. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1124/>

Sanlaville, D., & Lacombe, D. (2022). Kabuki syndrome: Clinical and molecular aspects. *European Journal of Medical Genetics*, 65(4), 103951. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2022.103951>

Scaglia, F. (2023). Inborn errors of metabolism. *Handbook of Clinical Neurology*, 187, 241–256. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822795-2.00016-9>

Selicorni, A., Mastrangelo, M., & Meazza, C. (2017). Kabuki syndrome: Clinical and molecular features. *American Journal of Medical Genetics Part C*, 175(1), 62–69. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31563>

Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. M., et al. (2017). DNA sequencing at 40: Past, present and future. *Nature*, 550(7676), 345–353. <https://doi.org/10.1038/nature24286>

Smigiel, R., Jakubiak, A., Lombardi, P., et al. (2015). Novel PTPN11 mutations associated with Noonan syndrome. *Journal of Human Genetics*, 60(1), 13–20. <https://doi.org/10.1038/jhg.2014.83>

Stevens, L., & Kwan, A. (2023). Genetic diagnosis in critically ill neonates. *Neonatal Network*, 42(3), 179–187. <https://doi.org/10.1891/0730-0832.42.3.179>

U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2023). *Genetic testing and rare diseases*. <https://www.fda.gov/>

Van der Auwera, G. A., & O'Connor, B. D. (2020). *Genomics in the cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra*. O'Reilly Media.

Wang, R., & Chang, S. (2023). Single nucleotide polymorphism in rare diseases. *Journal of Medical Genetics*, 60(7), 445–453. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2023-110923>

Whitsett, J. A., & Weaver, T. E. (2002). Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. *The New England Journal of Medicine*, 347(26), 2141–2148. <https://doi.org/10.1056/NEJMra021633>

Yüksel, M. (2024). Rare disease policies and their impact. *Health Policy Journal*, 18(2), 101–110. <https://doi.org/10.1016/healthpolj.2024.04.003>

Ekler

EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi

EK-2: Gönüllü Onam Formu

EK-3: Olgu Rapor Formu



Teşekkür

Doktora tezimi hazırlarken bilgi birikimi, rehberliği ve ilham verici yaklaşımıyla her aşamada yanımda olan, bilimsel derinliğini sanatsal duyarlılıkla birleştiren kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Tahir Atik'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Akademik rehberliğinin yanı sıra edebiyata olan ilgisi ve şiirlerindeki zarif anlatımıyla, düşünsel gelişimime çok yönlü katkılarda bulunmuştur.

Tez izleme sürecinde değerli katkılarıyla çalışmamı şekillendiren Sayın Prof.Dr.Ferda ÖZKINAY ve Prof.Dr. Özge ALTUN'a içten teşekkür ederim. Bilimsel merakımı besleyen, yolumu aydınlatan tüm hocalarıma ve birlikte üretmenin heyecanını paylaştığım meslektaşlarıma minnettarım.

Bu uzun ve yoğun süreç boyunca sabırları, sevgileri ve sınırsız destekleriyle bana güç veren sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından sağlanan destek ile gerçekleştirilmiştir; verdikleri katkı ve destek için teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmamda yer alan yenidoğan hastalarımıza ve ailelerine, katkıları ve güvenleri için teşekkür eder; bu bilimsel sürece katkı sunan tüm sağlık çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

İzmir, 30.08.2025

Durdugül AYYILDIZ EMECEN

Özgeçmiş

DURDUGÜL AYYILDIZ EMECEN

Doğum tarihi:

Öğrenim Durumu	Yeri	Tarihi
Lise	İstanbul Erkek Lisesi	2001-2006
Üniversite	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	2006-2012
İhtisas	Şişli Hamidiye Etfal E.A.H., Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	2013-2018
Yandal	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Genetik Hastalıkları	2018-2022

Uzmanlık tezi: Çocuk Enfeksiyon Kliniğinde 2003-2016 yılları arasında tüberküloz tanısıyla yatarak tedavi başlanan hastaların retrospektif değerlendirilmesi (2017)

Yayımlar:

1. Pınar karadeniz, Şebnem Özdoğan, Durdugül Ayyıldız Emecen , Ümmühan Öncül (2016). Asthma control test and pediatric asthma quality of life questionnaire association in children with poor asthma control. Turk J Pediatr. 2016;58(5):464-472. doi: 10.24953/turkjped.2016.05.002.
2. Emecen, D. A., Isik, E., Utine, G. E., Simsek-Kiper, P. O., Atik, T., & Ozkinay, F. (2020). Clinical and Molecular Spectrum of Four Patients Diagnosed with Mowat-Wilson Syndrome. Molecular Syndromology, 11(5-6), 296-301.

3. Durmaz, A., Aykut, A., Atik, T., Özen, S., Emecen, D. A., Ata, A., ... & Özkınay, F. (2021). A New Cause of Obesity Syndrome Associated with a Mutation in the Carboxypeptidase Gene Detected in Three Siblings with Obesity, Intellectual Disability and Hypogonadotropic Hypogonadism. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 13(1), 52.
4. Durmusalioglu, E. A., Isik, E., Emecen, D. A., Goksen, D., Ozen, S., Onay, H., ... & Ozkinay, F. (2021). The utility of reverse phenotyping: a case of lysinuric protein intolerance presented with childhood osteoporosis. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*.
5. Ozkinay, F., Emecen, D. A., Kose, M., Isik, E., Bozaci, A. E., Canda, E., ... & Onay, H. (2021). Clinical and genetic features of 13 patients with mucopolysaccharidosis type IIIB: Description of two novel NAGLU gene mutations. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 27, 100732.

Kitap bölümü:

1. Ayyıldız Emecen D, Özkınay F. Çocukluk ça- ğında sık görülen kas hastalıkları. Mihçı E, editör. *Çocuk Genetik Uygulamalarında Sık Görülen Hastalıkların Takip ve Tedavisi*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.121- 8.

Sözel Bildiri:

5.Ulusal Çocuk Genetik Hastalıkları Kongresi

1. Konjenital Anomali, Dismorfik Bulgular ve Talasemi İntermedia Kliniği Olan Bir Olguda Saptanan 16p13.3 Duplikasyonu ve 17q25.3 Delesyonu

Durdugül Ayyıldız Emecen 1, Esra Işık 1, Hüseyin Onay, 2 Tahir Atik 1,Nihal Karadaş3, Yeşim Aydınok 3

2. Arboleda-Tham Sendromlu Türkiye'den bildirilen ilk olgu ve KAT6A geninde yeni mutasyon

Durdugül Ayyıldız Emecen , Özlem Atansahin, Enise Avcı Durmuşalıoğlu, Ayça Aykut, Asude Durmaz, Özgür Çogulu, Ferda Özkınay

3. Yeni Nesil Dizi Analiziyle Tanı Alan Nadir İskelet Displazisi Olguları

Enise Avcı Durmuşalıoğlu, Esra Işık, Tahir Atik, Durdugül Ayyıldız Emecen, Hüseyin Onay, Melis Köse, Ebru Canda, Ferda Özkınay, Özgür Çoğulu

4. Joubert sendromu tanılı olguların klinik ve moleküler spektrumunun değerlendirilmesi

Durdugül Ayyıldız Emecen, Enise Avcı Durmuşalioğlu, Esra Işık, Tahir, Özgür Çoğulu, Hüseyin Onay, Ferda Özkınay

5. Nöromotor gelişim geriliği ve multipl konjenital anomalili olguda saptanan PAN2 gen mutasyonu

Özgür Çoğulu¹ , Durdugül Ayyıldız Emecen¹, Esra Işık¹, Asude Durmaz², Ayça Aykut² , Ferda Özkınay¹

6. Hedeflenmiş Yeni Nezil Dizi Analizi Paneli Verilerinin Yeniden Değerlendirilmesinin Tanı Başarısına Katkısı

Enise Avcı Durmuşalioğlu, Durdugül Ayyıldız Emecen, Melis Köse, Esra Işık, TahirAtik, Özgür Çoğulu, Hüseyin Onay, Ferda Özkınay

7. Klinik bulgular ile von Willebrand Hastalığı Tip 3 tanısı konulan olguların moleküler etiyojisinin belirlenmesi

Tahir Atik, Durdugül Ayyıldız Emecen, Esra Işık, Başak Durmuş, Ekrem Ünal, Elif Gülsüm Ümit, Neslihan Karakurt, Melike Sezgin Evim, Güner Hayri Özsan, Ahmet Muzaffer Demir, Cem Ar, Can Balkan, Kaan Kavaklı, Ferda Özkınay

Hemofili Vakalarla Eğitim Sempozyumu-HEVES 2020

1.VON WILLEBRAND HASTALIĞI'NDA VWF GENİ MUTASYON SPEKTRUMU

Esra Işık¹, Durdugül Ayyıldız Emecen¹, Ekrem Ünal², Serap Karaman³, Canan Albayrak⁴, Neslihan Karakurt⁴, Fahri Şahin⁵, Kaan Kavaklı⁶, Ferda Özkınay¹, Tahir Atik¹

Projeler:

1. Proje no: 22277 Afebril ve febril konvülziyonlu olgularda sitokrom P450 polimorfizmlerinin belirlenmesi
2. Proje no: 22223 Sepsis ve Septik Şok Tanılı Hastalarda Vitamin D reseptör Gen Polimorfizmlerinin Mortalite İle İlişkisinin Araştırılması
3. Proje no: 21662 Çocuk Hastalarda CARD9 Mutasyonları ile İnvaziv Mantar Enfeksiyonlarının İlişkisinin Değerlendirilmesi
4. Proje no: 21252 Kistik Fibrozis Hastalarında Klasik Dizi Analizi ile genotipi belirlenemeyen olgularda delesyon/duplikasyon analizi ile yeni mutasyonların belirlenmesi ve Klinik Fenotipe Etkileri
5. Proje no: 21027 Kalıtsal Trombosit Hastalığı Olan Hastalarda Tüm Ekzom Sekanslama ile Moleküler Genetik Tanı ve Sorumlu Yeni Genlerin Tespiti